

REMARKS

Claims 10, 11, 19, 20, 24, 25, 27 and 28 are amended herein. Claims 1-9 and 12-18 were cancelled previously. New claim 29 is added. With this response, claims 10-11 and 19-29 are now pending.

Claims 10, 11 and 24 have been amended to more clearly state the inventive concept of the present invention—that gastro-intestinal disorders can be treated with trefoil peptides delivered by a recombinant microorganism *in vivo*. Support for this amendment to the claims can be found throughout the specification, such as on page 3, lines 1-6 of the originally-filed specification, as well as in Example 2 (pages 15-17 of the original specification and the associated Figures) which details the treatment of gastro-intestinal disorders of the colon in mice.

Claims 20, 25 and 28 have been amended to address issues of clarity. Claims 10, 19, 20, 25 and 27 have been amended to correct the spelling of the terms “microorganism” and “peptide-coding”, as suggested by the Examiner. Claim 28 has been amended to depend from “the method of claim 27”. New claim 29 finds support at page 6, lines 7-18, and Example 2.

Applicant does not believe that any fees are due at this time; however, should any fees under 37 C.F.R. §§ 1.16 to 1.21 be required for any reason relating to this document, the Commissioner is authorized to deduct the fees from Howrey Simon Arnold & White, LLP Deposit Account No. 01-2508/13475.0002.PCUS00.

I. Claim objections

Claims 10, 19, 20, 25 and 27 were objected to including the incorrect limitation ‘micro-organism’, which according to the Examiner is inconsistent with the use of this term in the art.

Applicants have amended the claims so as to replace this limitation with the term 'microorganism', as requested by the Examiner.

Claim 27 was also objected to for containing the recitation 'trefoil peptide coding sequence'. Applicants have amended the claim so as to recite the phrase 'trefoil peptide-coding sequence', as per the Examiner's suggestions.

Claims 10, 19, 20, 25 and 27 are now believed to be in a condition for allowance.

II. Objection to the specification

The specification was objected to as allegedly containing several informalities. As specifically stated by the Examiner, the instant specification fails to address necessary trademark recitations, the figure descriptions are incorrect (especially in light of the objections by the Official Draftsman), and the specification is informal in format for failing to using the preferred content layout for a patent application.

With this response, a substitute specification has been included which addresses each of the objections of the Examiner. Applicant contends that the substitute specification addresses only changes in format and the cited informalities within the text of the specification. As such, none of the changes constitute new matter.

Applicants respectfully request that the objections to the specification be withdrawn.

III. Objection to the Drawings

The originally submitted drawings were objected to under 37 C.F.R. § 1.84, due to reasons as detailed by the Official Draftsperson.

A substitute set of drawings, correcting several errors and otherwise formalizing the drawings, is enclosed. The new drawings do not constitute new matter.

IV. Rejection under 35 U.S.C. § 112, second paragraph

Claims 10, 11 and 19-27 were rejected under 35 U.S.C. § 112, second paragraph as being allegedly indefinite in claiming the subject matter of the invention. Specifically, the Examiner has cited issues of redundancy in claim language (claim 10), indefiniteness for the use of the term “preferably” (claim 20), and improper antecedent basis (claims 11 and 24).

With the presently filed response, these rejections have been addressed in the amendments to the claims. Consequently, Applicant respectfully requests that the rejections of claims 10, 11 and 19-27 under 35 U.S.C. § 112, second paragraph be withdrawn.

V. Rejections under 35 U.S.C. § 103

A.

Claims 10, 11, 19-21, 23-25 and 27 were rejected under 35 U.S.C. § 103(a) as being allegedly unpatentable over PCT Patent Application No. WO 97/38712 to Podolsky (hereinafter “Podolsky”) and the journal article to Malin, *et al.* (“*Ann. Nutr. Metabolism*, Vol. 40: pp137-145, 1996; hereinafter “Malin”) in view of PCT Patent Application No. WO 97/14806 to Steidler, *et al.* (hereinafter “Steidler”). According to the Examiner, Podolsky disclosed a method of treating lesions in the alimentary canal of a patient by the administration of an intestinal trefoil factor (ITF) polypeptide, while Malin taught a method of treating Chron’s disease by oral administration of a composition containing a Gram positive bacterium, and Steidler demonstrated both the use of *Lactobacillus* species for delivering biologically active polypeptide antigens in vivo, as well as methods of producing such a recombinant bacterium. Applicant respectfully traverses.

According to MPEP § 706.02(j), for a claim to be obvious, there must be a) a suggestion or motivation to combine reference teachings, b) a reasonable expectation of success, and c) the references must teach all of the claim limitations, *In re Vaeck*, 947 F.2d 488, 20 U.S.P.Q.2d 1438 (Fed. Cir. 1991).

Podolsky merely suggests as speculation that the administration of trefoil peptides could be used in the treatment of peptic ulcer diseases, inflammatory bowel diseases, and the like. As described therein, Podolsky determined that trefoil peptides are naturally expressed in great abundance at the mucosal surface of the gastrointestinal tract, and are in fact expressed to a significantly greater extent in the proximity of the injured bowel. Podolsky further demonstrates (page 28) that trefoil-deficient mice that are treated with DSS (dextran sulfate sodium) develop severe colonic erosions. Podolsky thereafter concluded that trefoil peptides may be used to treat colonic diseases. However, no data to support this hypothesis is advanced. There is no actual disclosure in Podolsky that administration of trefoil peptides in vivo is effective to treat lesions of the alimentary tract, and specifically the colon. Further, there is no suggestion of *in-situ* delivery of trefoil proteins by microorganisms so as to treat gastric and/or intestinal diseases.

Malin describes the effect of oral bacteriotherapy with *Lactobacillus casei* GG in the nutritional treatment of Crohn's disease and juvenile chronic arthritis. As shown and described therein, the use of orally administered *Lactobacillus* resulted in an increase in the guts IgA immune response, suggesting that bacteria promotes the antigen-specific IgA immune response in associate with Crohn's disease (page 143, column 2). The authors conclude that *Lactobacillus* GG may "provide a promising nutritional adjunct treatment in gastro-intestinal disorders associated with impaired mucosal barrier" (page 144, column 2). However, no mention or

suggestion is made of the use of trefoil peptides alone or in combination with *Lactobacillus* in the treatment of such gastrointestinal diseases.

Steidler describes that bacteria, such as *Lactobacteria*, can be used to deliver/administer bioactive proteins *in situ*. No mention or suggestion is made of using trefoil proteins, delivering trefoil proteins, or that trefoil proteins must be delivered *via* bacteria in order to treat diseases of the GI tract. In fact, there is no suggestion that using *Lactobacteria* to recombinantly deliver trefoil proteins *in situ* to the gut will result in successful treatment of gastrointestinal inflammatory diseases.

Applicants present invention is directed to methods of *in vivo* delivery of trefoil proteins to the gastro-intestinal tract *via* a recombinant organism in order to treat gastro-intestinal diseases. According to the specification, the method comprises producing a recombinant microorganism, such as *Lactobacillus lactis*, for delivering the trefoil proteins *via* a recombinant vector that encodes a trefoil polypeptide, such as TFF1. As shown in Figures 6A-6C, Applicant's invention does not suggest that *Lactobacilli* alone (pTREX in the figures) as such can be used to effect treatment of DSS-induced colitis. In fact, from such figures, it is clear that bacteria such as *Lactobacillus* containing 'empty plasmids' does not effect the treatment of DSS-induced colitis. Rather, Applicants invention clearly and unexpectedly shows that inflammatory diseases/disorders of the lower intestine and GI tract can be successfully treated by *in situ* delivery of trefoil proteins by microorganisms. (See, Example 2 and Figures 6A-C, 7 and 8A-8B).

Applicant's would like to draw the Examiner's attention to the article by Poulsen, *et al.* (Gut, 1999, Vol. 45, pp. 516-522; hereinafter, "Poulsen"), a copy of which is enclosed herewith as part of a Supplemental Information Disclosure Statement. Poulsen details a study comparing

oral and systemic pTFF2 with respect to the healing of gastric and duodenal ulcerations, and details the metabolism and distribution of the peptides in the gastrointestinal tract. While some benefit was observed in the upper gastrointestinal tract, no beneficial effect appeared in the colon. As specifically stated by Poulsen, the fact that parenteral trefoil factor 2 (pTFF2) is apparently fermented and degraded in the caecum by bacteria “suggests that a beneficial effect of orally administered TFF2 in the colon is unlikely” (page 522, lines 11-13). These findings explicitly show that the suggestion of Podolsky does not appear to work, especially below the caecum in regions such as the colon.

None of the cited references suggests combining the teachings. More specifically, as described above, Podolsky teaches only that trefoil peptides are abundantly produced in the proximity of the injured bowel/lower GI tract. Consequently, there would be no reason to believe that extra trefoil peptide produced by bacteria would better aid in the treatment of such an injury. In fact, Applicant demonstrates (Example 3 and associated Figure 11) that acute colitis in mice (induced by DSS) cannot be treated by simply administering additional trefoil peptide (mTFF1) to the site of inflammation. Such evidence clearly contradicts what is suggested by Podolsky. Rather, as shown in Example 2 and Figures 6A-6C, 7 and 8, there is a clear decrease (~ 65%) of inflammation in the colon upon inoculation of mice with *L. lactis* cells producing trefoil peptides.

Further, Podolsky and Malin in view of Steidler do not suggest that their various teachings can be combined to obtain the resultant present invention with a reasonable expectation of success. As mentioned previously, Podolsky suggests only that administered trefoil peptides might be able to be used to treat colonic diseases. In fact, Applicants have shown (Ex. 3) that this is not the case. Malin suggests only that *Lactobacillus* spp. could be used as

nutritional therapy for Crohn's disease, but make no mention of the use of trefoil peptides. Steidler does not specifically suggest the delivery of trefoil peptides to the gut *via* bacteria. In fact, in light of Podolsky's teachings that trefoil peptides are abundantly produced in the proximity of the injured bowel region, and further in view of the teachings of Poulsen, one would not be motivated to combine the teachings of Malin and Steidler with those of Podolsky to obtain *in situ* delivery of trefoil peptides by microorganisms as a treatment of gastrointestinal diseases of the colon.

Furthermore, the cited references do not teach all of the claim limitations for pending claims 10, 11 and 19-29. Accordingly, Applicant requests that the rejections of claims 10, 11 and 19-28 under 35 U.S.C. § 103 be withdrawn.

B.

Claims 10, 11, 19-25 and 27 were rejected under 35 U.S.C. § 103(a) as being allegedly unpatentable over Podolsky in view of Le Page, *et al.* (WO 93/17117, hereinafter "Le Page"), Wells, *et al.* (Molecular Microbiology, Vol. 8 (1993), pp. 1155-1162; hereinafter "Wells Article 1"), and Wells, *et al.* (Applied Environmental Microbiology, Vol. 59 (1993), pp. 3954-3959; hereinafter "Wells Article 2"). According to the Examiner, Podolsky suggests the use of a applied trefoil peptides might be useful in treating acute gastrointestinal diseases. Le Page demonstrates the use of food-grade organisms for the recombinant delivery of peptides *via* a variety of routes. Further according to the Examiner, the Wells Article 2 teaches the use of recombinant *Lactococcus* strains for the expression of a heterologous protein using appropriate expression-secretion vectors, while the Wells Article 1 demonstrated that a heterologous peptide antigen could be expressed in substantial quantities and in soluble form via the expression of a

food-grade bacteria. Consequently, and according to the Examiner, it would have been *prima facie* obvious to one of skill in the art at the time of the invention to express the Podolsky trefoil peptide recombinantly in Le Page's or Wells' (Article 1 or 2) *Lactobacillus lactis* to produce the Applicants instant invention.

Podolsky has been described in detail above. Le Page suggests that Lactococci can be used to produce heterologous polypeptides by means of a T7 or T7-like RNA polymerase gene under the control of an inducible promoter. As further described therein, Le Page suggests that the biologically active polypeptides can be delivered in encapsulated form as oral or topical medicaments, or as vaccines. There is no mention or suggestion of using trefoil peptides delivered *via* Lactococcus for treating gastrointestinal inflammatory diseases of the gut or the colon. In fact, there is no suggestion that using the Lactobacteria described by Le Page to recombinantly deliver trefoil peptides *in situ* in the gut will result in the successful treatment of GI inflammatory diseases.

Wells Article 1 demonstrates that *L. lactis* can produce TTFC (tetanus toxin fragment C), and that such pre-loaded bacteria can be used in conjunction with vaccine antigen delivery. The results showed only that *L. lactis* was capable of expressing substantial quantities of heterologous protein antigen, and that *L. lactis* is capable of presenting the expressed antigen to the immune system of a mouse in an immunogenic form. There is no mention or suggestion of recombinantly delivering trefoil proteins *via* bacteria in order to successfully treat diseases of the GI tract, especially the colon.

Wells Article 2 describes a recombinant expression system for the secretion of a heterologous protein for use with a lactoccal gene expression system. As described therein, the results indicated that *L. lactis* was capable of secreting substantial amounts of heterologous

protein, and re-confirms previously reported findings that the cell wall may be serving as a functional barrier to the diffusion of secreted proteins into the growth medium. As with the other cited art, there is no mention or suggestion of recombinantly delivering trefoil proteins *via* bacteria in order to successfully treat diseases of the GI tract, especially the colon.

Applicant's present invention has been described in detail previously, in section A, above. None of the cited references suggest combining the teachings. More specifically, as detailed previously, Podolsky teaches only that trefoil peptides are abundantly produced in the proximity of the injured bowel/lower GI tract. There would be no reason to believe that extra trefoil peptide produced by bacteria would better aid in the treatment of such injuries.

Further, Podolsky and Le Page in view of the Wells Articles (Articles 1 and 2) do not suggest that their various teachings can be combined to obtain the resultant present invention with a reasonable expectation of success. As mentioned previously, Podolsky suggests only that administered trefoil peptides might be able to be used to treat colonic diseases. Applicants have shown in Example 3 and associated Figure 11 that this is not the case. Le Page suggests only that that Lactococci can be used to produce heterologous polypeptides, and that biologically active polypeptides can be delivered in encapsulated form as oral or topical medicaments. The Wells Articles (Article 1 and Article 2) only describe a recombinant expression system for the secretion of a heterologous protein. The Wells Articles do not specifically suggest the delivery of trefoil peptides to the gut *via* bacteria.

In fact, in light of Podolsky's teachings that trefoil peptides are abundantly produced in the proximity of the injured bowel region, and further in view of the teachings of Poulsen, one would not be motivated to combine the teachings of Le Page and Wells with those of Podolsky

to obtain *in situ* delivery of trefoil peptides by microorganisms as a treatment of gastrointestinal diseases of the colon.

Furthermore, the cited references do not teach all of the claim limitations for pending claims 10, 11 and 19-29. Accordingly, Applicant requests that the rejections of claims 10, 11 and 19-25 and 27 under 35 U.S.C. § 103(a) be withdrawn.

C.

Claim 26 was rejected under 35 U.S.C. § 103(a) as being allegedly unpatentable over Podolsky as modified by Malin and Steidler as applied to claim 10, and further in view of International Patent Application No. WO 8203329 to Silk, *et al.* (hereinafter, "Silk"). According to the Examiner, it would have been obvious to one of skill in the art to use Silk's gastric catheter to deliver Podolsky's proposed therapeutic composition as modified by Malin and Steidler to produce the instant invention.

Podolsky, Malin, and Steidler have been described in detail above. Silk describes glucose polymers useful for the nourishment of patients *via* the gastrointestinal tract. The glucose polymers described are long chain glucose polymers composed of 10-40 glucose units linked by a 1,4 α - and 1,6- α -D-glycosidic chemical bond. Administration is by oral, nasogastric, or abdominal osteotomy.

No suggestion is made by Silk to use a gastric catheter to deliver a therapeutic composition such as hypothesized by Podolsky and as modified by Malin and Steidler. In fact, as shown above in the described article by Poulsen, oral administration of trefoil peptides showed almost no active peptide in the colon, even after 24 hours (see, Figure 4, p. 519). Consequently, one of skill in the art would not be motivated art to use Silk's gastric catheter to

deliver Podolsky's proposed therapeutic composition as modified by Malin and Steidler and produce the instant invention with a reasonable expectation of success.

In light of the above, Applicant respectfully requests that the rejections of claim 26 under 35 U.S.C. § 103(a) be withdrawn.

* * * * *

In light of the above amendments and remarks, reconsideration and withdrawal of the outstanding objections and rejections are respectfully requested. All amendments are made in a good faith effort to advance the prosecution on the merits.

The Examiner is encouraged to call the undersigned should any further action be required for allowance.

Respectfully submitted,



Patricia A. Kammerer

Reg. No. 29,775

Attorney for Assignee

VLAMMS INTERUNIVERSITAIR INSTITUUT
VOOR BIOTECHNOLOGIE

HOWREY SIMON ARNOLD & WHITE, LLP
750 Bering Drive
Houston, Texas 77057-2198
(713) 787-1400

Date: February 26, 2004

From Dorland's Medical Dictionary: gramicidin, an antibacterial polypeptide produced by *Bacillus brevis*, which is one of the two principal components of tyrothricin..... Gramicidin S is a closely related substance produced by a thermophilic strain of *B. brevis*; called also Soviet gramicidin

Encyclopedic Dictionary of Medicinal Aromatic and Poisonous Plants

[logo]

1951

State Publishing House
for Agricultural Literature,
Moscow

[List of editors and authors not translated.

List of abbreviations used not translated.

Translation omits most of the first page, about anise.]

ANTIBIOTICS, compounds originally obtained from soil bacteria, having the ability to hinder the growth and replication of other bacteria (bacteriostatic or antiseptic agents) or to kill them (bactericidal or disinfectant). Now antibiotics are obtained from various sources: from bacteria, molds, actinomycetes, higher plants and animals.

Green mold was first used to treat purulent wounds by the Russian physicians V. A. Manasein and A. G. Polotebnov as early as 1871, when they dress wounds with dressings containing a green mold culture; they found that in such cases the pyogenic bacteria in the wounds died. The use of the principle of antagonism in the world of bacteria for treating infectious wounds was discussed sixty years ago by I. I. Mechnikov, who suggested that harmful purulent bacteria be eliminated from the human intestines by introducing the lactic acid bacteria found in abundance in sour milk.

In 1929 Fleming accidentally obtained from the mold *Penicillium notatum* (green mold) a liquid form of penicillin, which has very high bactericidal activity. But penicillin was not used in medicine because of its instability until 1941, when a method was found for chemically processing, purifying and drying it; penicillin in powder form became sufficiently stable, its toxicity was reduced, and it became possible to obtain solutions of the desired concentration and to give more precise doses. Such penicillin was widely used for therapy in general purulent infection - sepsis, topical purulent infection, purulent pleuritis, suppuration in the lungs, meningitis, brain abscesses, peritonitis, carbuncles, septic endocarditis, infected wounds and ulcers, gas gangrene, gonorrhea, syphilis, etc.

Soviet penicillin was obtained by E. V. Yermol'yevaya and is obtained from special races of *Penicillium chrysogenum*, raised in the USSR at the Institute for Penicillin. It is processed industrially and used for the diseases listed above.

In 1939 a particular species of soil bacterium, *Bacillus brevis*, was found which excretes into its surroundings a substance which kills pyogenic microbes.

This substance was isolated in the form of a white amorphous powder called tyrothricin, which is highly bactericidal: in thousandths of a milligram, tyrothricin kills pyogenic microbes. Its medical use began in late 1941. Tyrothricin is a mixture of two chemicals - gramicidin and tyrocin, crystalline polypeptides consisting of amino acids. Tyrothricin and later gramicidin were used to treat purulent wounds.

Soviet gramicidin S was obtained by Gauze and Brazhnitskovaya in 1942-1943 from a medium used for cultivating a new strain of *Bac. brevis* var. G. B., found in kitchen gardens in the Moscow area. It differs physically and chemically from tyrothricin in that gramicidin S is crystalline and tyrothricin amorphous; gramicidin S consists of 5 amino acids, gramicidin from [the usual strain of] *Bacillus brevis* consists of 24, and tyrothricin of 17; the melting point and form of crystals from gramicidin S are different from those in gramicidin from *Bacillus brevis*; and the Soviet product is distinguished by particularly high activity: it has 10 times the bactericidal power of tyrothricin against staphylococci, and in addition kills microbes of typhus, paratyphoid, dysentery, proteus and *E. coli* against which products from [ordinary] *Bacillus brevis* are inactive. Gramicidin S is more stable than tyrothricin.

Gramicidin is used only topically: to treat purulent wounds, in empyemas of the pleura and joints, erysipelous purulent phlegmons, abscesses, carbuncles, and gas gangrene. The new product gramicidin-casein, developed by Gauze and Brazhnitskovaya, does not hemolyze the blood and therefore can be administered intravenously.

The most stable of all the antibiotics is streptomycin, obtained in 1946 from a particular strain of the actinomycete *Streptothrix griseus*; it is highly active against cocci and the spirochete syphilis, and is also active against *E. coli*, typhus and paratyphoid bacilli. Streptomycin is especially well known among the antibiotics for being active against brucellosis, tularemia and tuberculosis bacilli.

A large quantity of antibiotic has been obtained from the above plants [i. e., fungi] by B. P. Tokin and his collaborators. Since 1928 he has been studying volatile substances and juices produced by plants. Some of these substances act on protozoa and bacteria not only bacteriostatically but also bactericidally; he called such substances phytoncides, i. e., killers of plant origin. Volatile substances isolated from flowers of the bird cherry [*Prunus padus*] and from birch leaves kill protozoa in 15-20 minutes, and an aqueous extract from pine cones does so in 1-2 minutes. Phytoncides from onion, garlic, horseradish and *Sanguisorba* are very highly active; for example, if you chew onion for 1-2 minutes your mouth becomes clean and sterile; all the microorganisms in it are killed. Phytoncides are found in the leaves of pineapples, lemons, mandarin oranges, tomatoes, junipers, fragrant poplar, and yellow acacia, and in the leaves and flowers of grey wormwood [*Artemisia*], black currant [*Ribes*], yarrow [*Achilea*] and other plants. Phytoncides have been found in more than 3000 plants.

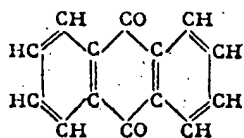
In the red blood cells of humans, guinea pigs and rats, L. A. Zil'ber and L. M. Jakobson found a bacteriostatic substance erythrin, which is active against diphtheria bacilli and *Bacillus brevis*, and to a somewhat lesser degree against staphylococci and streptococci. Also worth noting is *Bacterium prodigiosum* - the prodigious bacillus, a soil bacterium which contains an antibiotic active against the typhus bacillus and staphylococcus. In 1942 B. I. Kurochkin developed a product from this bacillus for medical use in treating purulent wounds; this product is also used successfully for destroying diphtheria bacilli in the throat.

Most antibiotics are not important in therapy either because of their low activity, for instance a gramicidin-like substance isolated from green molds, or because of their volatility -- a large number of phytoncides, or their rapid decomposition, or, finally, because of their high toxicity, for instance bee and snake toxins. Bee toxin is used to treat rheumatism using bee stings, while cobra venom has been studied at a clinic of Tashkent Medical Institute for use against cancer.

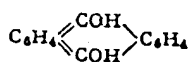
The mechanism of action of antibiotics is still unclear. Tyrothricin is thought to be an enzyme which destroys the capsule which covers pneumococci and other cocci, after which they die without their defensive covering. Penicillin acts by preventing the bacteria from using pyruvic acid, which they need for their nutrition. Antibiotics can prevent bacterial cell division (multiplication), so that the bacteria eventually die. Antibiotics can neutralize vitamins needed by the bacteria in order to live; they can displace enzymes needed by the bacterial cell for metabolism, respiration or oxidation, or they can act by the formation of antioxidants harmful to the bacterial cells.

Antibiotics are important not only in medicine but also for their tremendous biological action against bacteria in the soil, water and air; their prophylactic role in the sanitary-hygienic conditions of all life cannot be overestimated.

ANTHRAQUINONE, a yellow crystalline powder, odorless, melting point 284-285°C, boiling point 382°C, poorly soluble in water and alcohol. Chemical formula:



First obtained in 1840. Widely used in the dye industry. To determine its authenticity, it is reduced by hydrogen, with a small quantity of anthraquinone power being acted on by zinc dust in an alkaline medium; this gives a brown product, anthrahydroquinone:



Anthrahydroquinone dissolves in alkalis with a dark red color that disappears after it has been shaken in the air (oxidation in anthraquinone). Anthraquinone is easily sulfonated to form anthraquinosulfinic acid. When heated with lime, alfaanthraquinosulfinic acid forms oxyanthraquinones. Oxyanthraquinones in the form of the glucoside ruberitrinic acid are found in the roots of dyer's madder (*Rubia tinctorum*) and other types of madder.

The oxyanthraquinone alizarin, when reacted with manganese dioxide, oxidizes to the trioxyanthraquinone purpurin. Anthraquinone products (trioxyanthraquinones) include a large group of purgatives obtained from plants, called emodins. Emodins in their free form or in the form of glucosides are found in rhubarb, aloe, buckthorn, horse dock [*Rumex*, sorrel], and cassia [probably purging cassia - *Cassia fistula*].

[Translator's Note: Did not translate sections on *Ahnfeltia* through *Citrus sinensis*]

Т8346

ЭНЦИКЛОПЕДИЧЕСКИЙ СЛОВАРЬ

ЛЕКАРСТВЕННЫХ,
ЭФИРНОМАСЛИЧНЫХ
И ЯДОВИТЫХ
РАСТЕНИЙ



Академия Наук СССР
БИБЛИОТЕКА
Отделения биологических наук

1951

1 9 5 1 11 1951

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
ЛИТЕРАТУРЫ
МОСКВА

Библ.
Москва, Ленинский пр., 33

78346

Составитель
Г. С. ОГОЛЕВЕЦ

НАУЧНАЯ РЕДАКЦИЯ:

Проф. В. В. Вильямс, проф. Ф. А. Сацыцеров,
кандидат фармацевтических наук Е. Ю. Шасс,
проф. Д. М. Щербачёв

РЕДАКТОРЫ-КОНСУЛЬТАНТЫ:

Н. А. Комарницкий, акад. Н. А. Максимов

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ:

В. Н. Ворошилов, Н. Н. Ворошилов, Ф. В. Иванов,
П. И. Калугин, А. П. Кирьянов, Ф. И. Ласский,
Н. А. Львов, проф. В. В. Николаев, Г. С. Оголевец,
проф. Л. А. Раздорская

АВТОРЫ СПЕЦИАЛЬНЫХ РАЗДЕЛОВ:

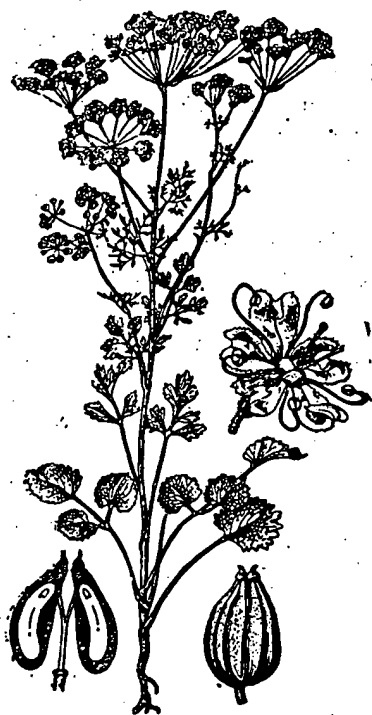
И. М. Ахунваде, А. М. Бунина, А. Н. Васина,
Т. Б. Вернандер, проф. В. В. Вильямс,
А. А. Германов, проф. М. В. Горленко,
П. Ф. Демьянец, В. П. Екимов, С. Е. Землинский,
М. А. Ильин, проф. Н. Н. Киселёв, проф.
Л. М. Кречетович, С. Д. Кур, проф. М. С. Магитт,
Н. П. Перепишко (Н. Перенко), Л. М. Уткин,
Н. А. Чулков, Е. Ю. Шасс

**УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ,
ПРИНЯТЫЕ В ЭНЦИКЛОПЕДИЧЕСКОМ СЛОВАРЕ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ, ЭФИРНОМАСЛИЧНЫХ
И ЯДОВИТЫХ РАСТЕНИЙ**

б. или м.—более или менее
б. ч.—большой частью
в., вв.—век, века
вкл.—включительно
вост.—восточный
в т. ч.—в том числе
выс.—высота
г., гг.—год, годы
гл. обр.—главным образом
гос.—государственный
ГОСТ—государственный общесоюзный стандарт
диам.—диаметр
дл.—длина
д. б.—должно быть
др.—другой, другая, другие
европ.—европейский
зап.—западный
изд.—издание
и пр.—и прочее
и т. п.—и тому подобное
и т. д.—и так далее
ин-т—институт
к.-л.—какой-либо
к.-н.—какой-нибудь
к-рый—который
м. б.—может быть
мес.—месяц
мин.—минута
напр.—например
наиб.—наиболее
наст.—настоящий
нек-рый—некоторый
неск.—несколько
н.-и.—научно-исследовательский
о-в—остров
ок.—около

оч.—очень
п-ов—полуостров
пр.—прочее
преим.—преимущественно
пром.—промышленный
проф.—профессор
р., рр.—река, реки
р-ние—растение
р-н—район
св.—свыше
с.-в., сев.-вост.—северо-восточный
сев.—северный
с.-з., сев.-зап.—северо-западный
сем.—семейство
след.—следующий
см.—смотри
ср.—средний
с.-х.—сельскохозяйственный
с. х-во—сельское хозяйство
тыс.—тысяча
табл.—таблица
темп-ра—температура
т. к.—так как
т. н., так наз.—так называемый
т. о., так. обр.—таким образом
ун-т—университет
употр.—употребляется, употребляют
х-во—хозяйство
хоз.—хозяйственный
центр.—центральный
ч.—часть
шир.—ширина
шт.—штука
экз.—экземпляр
ю.-в.—юго-восточный
юж.—южный
ю.-з.—юго-западный

листья длинночерешковые, цельные или лопастные, округло-почковидные, крупнозубчатые; средние листья тройчатые, также черешковые с клиновидными, надгребенными пильчатыми листочками; верхние листья сидячие, трёх-пятираздельные с линейными, часто лопастными долями. Цветки белые, собраны в зонтики. Плод—двусемянка яйцевидной или грушевидной формы, суженная к верхушке, дл. 3—4 мм. Созревшие плоды зеленовато-серые, покрыты короткими прижатыми



Анис.

волосками, с 10 продольными беловатыми ребрышками, имеют приятный пряный запах, сладковатые на вкус.

Лучшими почвами для А. являются суглинистые и супесчаные чернозёмы, богатые перегноем. Тяжёлые глинистые, солончатые и песчаные почвы непригодны. В севообороте А. размещается после озимых хлебов. Вегетационный период 110—120 дней с суммой темп-р до 2 200°. Посев А. производится по хорошо разработанной зяби. Для прорастания семян необходимо много влаги; всходы А. не боятся заморозков, поэтому применяются ранние сроки посева. Высевают А. рядовыми сеялками с заделкой семян на глубину 2—3 см, с междурядьями от 30—35 см (при ручной обработке) до 45 см (при тракторной обработке). На 1 га требуется 12—14 кг кондичионных семян. Для повышения энергии прорастания, перед посевом производят воздушно-солнечную просушку семян в течение 2—3 дней. Уход заключается в своев-

ременной и тщательной полке и рыхлении почвы. Кроме основного удобрения, вносимого под зябь (45 кг азота, 60 кг фосфорной кислоты и 30 кг калия на 1 га), при образовании розетки листьев р-нием дают подкормку азотом (20 кг на 1 га). Урожай убирают во второй половине августа переоборудованным комбайном. Уборку начинают при побурении 50—60% центральных зонтиков. Собранные семена очищают, просушивают на воздухе или в сушилке (в последнем случае при темп-ре не св. 40—50°) и сдают на переработку или для использования в пищевой промышленности (в кондитерском производстве и хлебопечении в качестве пряности). Стандартный А. должен иметь нормальный цвет, запах и вкус при влажности не выше 12%; содержание сорной примеси не больше 3% (минеральной 1% и не больше 2% органической—семян других растений и обломков стеблей аниса); содержание эфирномасличной примеси (повреждённые семена аниса и семена других эфирномасличных культур) не больше 3%. Зольность не более 10%. А. хранят в сухом месте. Плоды А. содержат 2,2—3,2% эфирного масла и 18—20% жирного масла.

Эфирное масло получают перегонкой с водяным паром, а жирное—экстракцией бензином или дихлорэтаном. Продолжительность гонки 30—36 час. при скорости 5% дестилляционных вод в час от ёмкости куба при давлении пара 5—6 атм. Продолжительность гонки значительно сокращается при перемешивании сырья в процессе гонки и при применении пара с темп-рой не св. 180°.

Анисовое масло представляет, в зависимости от темп-ры, прозрачную, бесцветную либо слабожелтоватую жидкость или белую кристаллическую массу с характерным запахом плодов аниса. Оно обладает сладким вкусом без горечи.

В состав анисового масла входят, гл. обр., анетол (до 80%), метилхавикол (до 10%), а также анис-кетон, анисовый альдегид и анисовая кислота. Темп-ра плавления не ниже +15°.

Анисовое масло применяют в изделиях санитарии и гигиены, гл. обр., в зубных порошках, пастах, эликсирах и туалетных водах, для приготовления нашатырно-анисовых капель, в производстве химико-фармацевтических препаратов, а также для изготовления ликёров и наливок. Анисовое масло служит сырьём для получения анетол (см.).

Жирное масло, извлекаемое после отгонки эфирного масла, пригодно для использования в мыловаренной промышленности.

АНТИБИОТИКИ, вещества, первоначально получавшиеся из почвенных бактерий, обладающие свойствами задерживать рост и размножение других бактерий (бактериостатические или антисептические средства) или убивать их (бактерицидные или дезинфицирующие). Теперь А. добывают из разного сырья: из бактерий,

плесневых грибов, актиномицетов, из высших р-ний и животных.

Впервые зелёную плесень применили для лечения гнойных ран русские врачи В. А. Манасеин и А. Г. Полотебнов ещё в 1871, накладывая на раны повязки с культурой зелёной плесени; они же установили, что в таких случаях гноеродные бактерии в ранах погибали. О возможности при лечении инфекционных заболеваний использовать явления антагонизма в мире бактерий говорил шестьдесят лет назад И. И. Мечников и предложил для устранения вредных гнилостных бактерий из кишечника человека вводить внутрь с простоквашей находящегося в ней в изобилии бактерий молочнокислого брожения.

Из плесневых грибов *Penicillium notatum* (зелёная плесень) в 1929 Флемингу случайно удалось получить в жидком виде пенициллин, обладающий очень большой бактерицидной активностью. Однако пенициллин до 1941 не применялся в медицине из-за своей непрочности, пока не был найден способ его химической переработки, очистки и сушки; пенициллин в виде порошка стал достаточно стойким, токсичность его понизилась, была получена возможность иметь его растворы желательной концентрации и дозировать их более точно. Такой пенициллин широко применяют для лечения при общей гнойной инфекции—сепсисе, местной гнойной инфекции, гнойном плеврите, нагноении в лёгких, менингите, абсцессах мозга, перитонитах, карбункулах, септических эндокардитах, инфицированных ранах и язвах, газовой гангрене, гоноррее, сифилисе и т. д.

Советский пенициллин был получен З. В. Ермольевой и добывается из выведенных в СССР в Институте пенициллина особых рас *Penicillium chrysogenum*. Он вырабатывается у нас заводским путём и применяется при указанных выше болезнях.

В 1939 среди почвенных бактерий был найден особый вид их—*Bacillus brevis*, выделяющий в окружающую среду вещество, убивающее гноеродных микробов.

Это вещество было выделено в виде белого аморфного порошка—тиротрицина, обладающего огромной бактерицидностью: в тысячных долях миллиграмма тиротрицин убивает гноеродных микробов. Его медицинское применение началось с конца 1941. Тиротрицин есть смесь двух химических тел—грамицидина и тироцина, кристаллических полипептидов, состоящих из аминокислот. Тиротрицин, а затем грамицидин были применены для лечения гнойных ран.

Советский грамицидин С получен Гаузе и Бражниковой в 1942—1943 из среды, служившей для культивирования новой разновидности *Bac. brevis* var. *G.-B.*, найденных на огородах Подмосквы. В физическом и химическом отношении он отличается от тиротрицина: грамицидин С—тело кристаллическое, ти-

ротрицин—аморфен; молекула грамицидина С состоит из 5 аминокислот, грамицидина *Bacillus brevis*—из 24, а тиротрицина—из 17; точки плавления, форма кристаллов также у грамицидина С иные, чем у грамицидина из *Bacillus brevis*; и что особенно отличает советский препарат, это его высокая активность: он обладает бактерицидностью в 10 раз большей, чем тиротрицин, на стафилококков, и, кроме того, он убивает микробы тифа, паратифа, дизентерии, протей и кишечной палочки, на к-рых препараты *Bacillus brevis* не действуют. Грамицидин С более стоек, чем тиротрицин.

Применяют грамицидин только местно: для лечения гнойных ран, при остеомиелитах, при эмпиумах плевры и суставов, рожисто-гнойных флегмонах, абсцессах, карбункулах, при газовой гангрене. Новый препарат «грамицидин-казеин», выработанный Гаузе и Бражниковой, не гемолизует кровь, и потому может вводиться внутривенно.

Из всех А. наиболее стоек стрептомицин, добытый в 1946 из определённого штамма актиномицета—*Streptotrix griseus*; он очень активен в отношении кокков и спирохет сифилиса и, кроме того, действует на кишечную, тифозную и паратифозную палочки. Особенно выделяет стрептомицин среди других А. его свойство действовать на бактерии бруцеллёза, туляремии и на палочки туберкулёза.

Из высших р-ний большое количество А. получил Б. П. Токин с своими сотрудниками. Он с 1928 изучает летучие вещества и соки, вырабатываемые р-ниями. Некоторые из этих веществ действуют на простейших и на бактерий не только бактериостатически, но и бактерицидно; такие вещества он назвал фитонцидами, т. е. губителями растительного происхождения. Летучие вещества, выделяемые цветками черёмухи, листьями берёзы, убивают простейших в течение 15—20 мин., а водный экстракт из сосновой хвои—в течение 1—2 мин. Фитонциды из лука, чеснока, хрена и кровохлёбки обладают огромной активностью; напр., стоит пожевать лук в течение 1—2 мин., и рот становится чистым, стерильным; все микроорганизмы в нём погибают. Фитонциды находятся в листьях апельсинов, лимонов, мандаринов, томатов, можжевельника, душистого тополя, жёлтой акации, в листьях и цветках серой полыни, чёрной смородины, тысячелистника и др. р-ний. Фитонциды найдены св. чем в 3000 растений.

В красных кровяных тельцах человека, морских свинок и крыс Л. А. Зильбер и Л. М. Якобсон нашли бактериостатическое вещество—эритрин, активный в отношении дифтерийной палочки и *Bacillus brevis* и в неск. меньшей степени активный к стафилококку и стрептококку. Следует, кроме того, указать на *Bacterium prodigiosum*—чудесную палочку, почвенный микроб, содержащий А., действующий

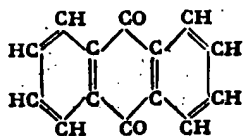
на тифозную палочку и на стафилококк. Препарат из чудесной палочки в медицинскую практику ввел в 1942 Б. И. Курочкин для лечения гнойных ран; этот препарат применяется с успехом и для уничтожения дифтерийных палочек в горле.

Большая часть А. не играет роли среди лечебных средств или вследствие своей малой активности, напр., грамицидиноподобное вещество, выделенное из зёрен пшеницы, или вследствие своей летучести—большое количество фитонцидов, или быстрой разлагаемости, или, наконец, вследствие большой токсичности, напр., пчелиный и змеиный яды. Пчелиный яд применяют при лечении ревматизма укусами пчёл, а яд кобры изучался в клинике Ташкентского медицинского института как средство против рака.

В вопросе о механизме действия А. не всё ещё ясно. На тиротрицин смотрят как на энзим, разрушающий капсулу, покрывающую тело пневмококка и др. кокков, после чего они, лишившись своей защитной брони, погибают. Действие пенициллина на бактерии связывают с его свойством препятствовать бактериям использовать пировиноградную кислоту, необходимую для их питания. А. могут препятствовать делению бактерий—их размножению, и бактерии в конце концов погибают. А. могут нейтрализовать витамины, необходимые бактериям для их жизни; могут вытеснять энзимы, нужные бактериальной клетке при обмене веществ; при дыхании, при процессах окисления, или содействовать образованию перекисленных продуктов, вредных для бактериальных клеток.

Значение А. велико не только в медицине, но оно огромно по их биологическому воздействию на бактерии в земле, воде и воздухе; их профилактическая роль в санитарно-гигиенической обстановке всего живущего не может быть переоценена.

АНТРАХИНОН, жёлтый кристаллический порошок без запаха с темп-рой плавления 284—285° и темп-рой кипения 382°, трудно растворимый в воде и спирте. Химическая формула:



Впервые получен в 1840. Широко применяется в красочной промышленности. Для определения подлинности А., его восстанавливают водородом, для чего на небольшое количество порошка А. действуют цинковой пылью в щелочной среде; получается продукт коричневого цвета—антрагидрохинон:



Антрагидрохинон в щелочах растворяется с темнокрасным цветом, исчезающим при

встряхивании с воздухом (окисление в А.). А. легко сульфировается, образуя антрахиносulфо-кислоты. При нагревании альфа-антрахиносulфо-кислот с известью образуются оксиантрахиноны. Оксиантрахиноны в виде глюкозида—рубериитриновой кислоты найдены в корнях марены красильной (*Rubia tinctorum*) и др. видов марены.

Оксиантрахинон ализарин при действии двуокиси марганца окисляется в триоксиантрахинон пурпурин. К антрахиноновым производным (триоксиантрахинонам) принадлежит большая группа слабительных веществ, получаемых из р-ний и называемых эмодинами. Эмодины в свободном виде или в виде глюкозидов находятся в ревене, сабуре, крушине, конском щавеле и кассии.

АНФЕЛЬТИЯ (*Ahnfeltia*), морские водоросли сем. гигартиновых из типа багрянок. А. складчатая (*A. plicata*) встречается в Белом море, используется в СССР для промышленного получения технического и медицинского агар-агара. Для этой же цели используется дальневосточная багряная водоросль—*Gymnogongrus Griffithsiae*. Оба вида включены в VIII издание Государственной фармакопеи СССР как источник медицинского агар-агара. В золе А. содержится 0,7% йода.

АНЮТИНЫ ГЛАЗКИ, см. Фалки.

АПЕЛЬСИН (*Citrus sinensis*), вечнозелёное дерево сем. рутовых. А. имеют округлую крону и тонкие колючки в пазухах листьев. Листья ср. величины с острой верхушкой и закруглённым основанием на узкокрылатых черешках. Цветки в пазухах листьев одиночные или в рыхлых щитках, белые, пятилепестные; тычинок 20—25; завязь почти шаровидная, 10—13-гнездная; столбик тонкий. Плод шаровидный или сдавленно-шаровидный, с тонкой, плотной, негорькой кожурой. Семена клиновидно-яйцевидные, внутри белые. А. очень давно находится в культуре и в настоящем диком виде не известен. Одни считают родной его Гималаи, другие южный Китай и Индо-Китай. Первое упоминание А. в Китае относится к VI в. до н. э. В Европу (Португалия) был завезен в XV—XVI вв. Время появления А. в нашей стране не установлено, вероятно, относится к середине и концу XVII в.

А. наиболее распространённая цитрусовая культура во всех тропических и субтропических областях мира. А. более морозостоек, чем лимон, но требует больше тепла для полного вызревания.

А. до недавнего времени всюду размножался семенами. Вследствие этого, а также в результате почечных вариаций всюду возникло очень много разнообразных форм. Описано свыше 100 сортов, но большинство их имеет только местное значение. По новейшей классификации А. сорта делятся на три группы: 1) средиземноморские—с нормальными плодами без красной окраски мякоти и без пупка, 2) навелы—с пло-

ЛАТИНСКО-РУССКИЙ УКАЗАТЕЛЬ НАЗВАНИЙ РАСТЕНИЙ

А

- Abies sibirica*—Пихта сибирская 291
Acacia—Акация 42
A. dealbata—А. серебристая, мимоза 10, 445
Ascanophyllum glandulosum, *A. gypsophiloides*, *A. paniculatum*—Колючелистник, мыльвянка—246
Acer—Клен (*A. ginnala*—речной, *A. ginnala*, *A. platanoides*—обыкновенный, *A. saccharinum*—сахарный) 158
Achillea—Тысячелистник (*A. filipendulina*—таволговый, *A. millefolium*—обыкновенный, *A. santolina*—сантолиновидный, *A. setacea*—щетиный, *A. sibirica*—сибирский) 392
Aconitum—Борец аконит 14, 45, 137
A. alata—алатарский, *A. altaicum*—алтайский, *A. baicalense*—байкальский, *A. barbatum*—бородатый, *A. Bauchini*—Бохина, *A. excelsum*—высокий, *A. karakolicum*—каракольский, *A. Kusnezoffii*—Кузнецова, *A. Lobelianum*—Лобеля, *A. neomontanum*—новогорный, *A. pyramidalis*—пирамидальный, *A. soongaricum*—джунгарский, *A. talassicum*—таласский, *A. tauricum*—таврический 45, 46
A. Napellus (*A. Linnaeanum*)—А. напелюс (секция *roka*) 45, 312
Ascorus calamus—Аур, 9, 445
Ascroptilon picris—Горчак 92
Actinidia—Актинидия (*A. arguta*—острая, *A. kolomicta*—коломикта, *A. polygamia*—носатая, *A. Sugawagana*—сахалинская) 12
Actinomyces—Актиномицеты 13
Adonis sibirica—Горипцвет сибирский 91
A. vernalis—Г. весенний, черная горка 91, 314, *A. wolgensis*—Г. волжский 91
Aesculus hippocastanum—Каштан конский 150
Agaricus bulbosus—Поганка бледная 316
Agrimonia eupatoria—Ренешок обыкновенный, табл. XVII, рис. 3
Agropyrum cristatum—Пырей гребенчатый 320
A. repens—Пырей ползучий 320
Agrostemma githago, *A. linicola*—Куколь 186, 187
Achillea plicata—Анфельция складчатая 22, 69, 138
Allanthus altissima—Айлант, китайский ясень 10
Albizia julibrissin—Альбиция, шелковая акация 42
Alchemilla—Манжетка 180
Aleurites—Тунг, тунговое дерево 390, 391
Algae—Водоросли 68, 69
Alhagi—Верблюжья колючка (*A. kirghisorum*—киргизская, *A. persarum*—персидская, *A. pseudalhagi*—обыкновенная) 58
Allioideae—Луковые (подсемейство лилейных) 203
Allium—Лук огородный, репчатый 212
A. latissimum—Альпийская черемша 212
A. longicarpis—Чеснок среднеазиатский, лук длинно-остроконечный 427
A. ursinum—Л. медвежий, черемша 212
A. victorialis—Л. победный, черемша 212
Alnus—Ольха (*A. glutinosa*—клеякая, *A. incana*—серая) 180, 264
Alnus—Алоэ (*A. arborescens*—древовидный, *A. ferox*—ферокс, *A. vera*—настоящий) 15, 143
Alpinia nutans—Альпиния пониклая 145 (*A. officinarum*—Галанга, калган настоящий) 142
Althaea officinalis—Алтей лекарственный 15, 16
A. rosea var. *nigra*—Мальва черная, шток-роза 180, 221
Amanita caesarea—Поганка цезарева 244
Amanita mappa—Поганка бледная желтоватая 96, 315
A. muscaria—Мухомор 96, 244, 254, 314
A. phalloides—Поганка бледная 96, 244, 315
A. rubescens—Поганка красноватая 244
A. virosa—Поганка бледная вонючая 315
Amaryllidaceae—Амариллисовые 17, 445
Amgdalus communis—Миндаль (*A. communis* var. *amara*—горький, *A. communis* var. *dulcis*—сладкий, *A. Petunnikowii*—Петунникова, *A. spinosissima*—колючий) 235

Anabasis aphylla—Анабазис, ежовник без-
лиственный, итсегек 18
Anacamptis pyramidalis—Анакамптис 454
Anacyclus officinarum (*Anacyclus rugi-
thrum*) Слюногок 355
Anagallis arvensis—Очный цвет 273
Anamirta cocculus (*Anamirta paniculata*)—
Рыбные ягоды 336
Anchusa officinalis—Воловик 70
Andira araroba—Андира 107, 415
Andromeda polyfolia—Подбел, андромеда
54, 58, 294
Aneides—Ветренница (*A. debilis*—В. сла-
бая (полярная), *A. nemorosa*—лесная,
A. garruloides—лютиковая) 59, 315,
табл. XIII, рис. 1
Anisodus luridus—Скополия азиатская
278, 351
Antennaria dioica—Бессмертник белый,
кошачьи лапки 41
Anthemis—Пулавка
A. cotula—П. обыкновенная, или собачья
ромашка 319
A. nobilis—П. благородная, или ромашка
римская 285, 319
A. tinctoria—П. красильная 318
Anthoxanthum odoratum—Пахучий коло-
сок, табл. VIII, рис. 2
Anthora—Автора (секция рода *Aconitum*)
45
Anthriscus cerefolium—Кервель 152,
табл. IX, рис. 3
Anthriscus silvestris, *A. vulgaris*—Ку-
пырь 188, 189
Antirrhinum majus—Львиный зев 285
Арсениум—Кендырь 152
A. cannabinum—К. конопляный 152, 419
Arabidopsis toxophylla—Гулявник ядо-
витый 99
Агасеae—Аронидные 445
Agalia racemosa—Аралия кистистая 23
Archangelica officinalis—Дягель, анге-
лика 113
Arctium—Лопух (*A. majus*—большой,
A. minus—малый, *A. tomentosum*—вой-
лочный) 211
Arctostaphylos uva ursi—Толокнянка 389,
табл. IV, рис. 2
Arecas catechu—Пальма катеху 173, 274
Arenaria capillaris—Песчанка волосовид-
ная, *A. juncea*—П. ситниковая 284
Arisaema amurense—Арисема амурская,
A. triphylla—А. трёхлистная 24
Aristolochia clematitis—Кирказон лomo-
новосидный 154
Armeniaca—Абрикос (*A. Davidiana*—Да-
вида, *A. manshurica*—манчжурский,
A. sibirica—сибирский, *A. vulgaris*—
обыкновенный) 5
Armoracia rusticana—Хрен 414
Arnica Chamissonis—Арника Хамисонова,
A. montana—А. горная 24, табл. XIX,
рис. 4
Artemisia—Полынь 298 (*A. absinthium*—
П. горная 298, *A. annua*—П. однолет-
няя 145, *A. arenaria*—П. песчаная 298,
A. cina—Дармина, питварная полынь
101, *A. dracunculoides*—Эстрагон 444,
A. herba alba—П. белотравная, *A. in-*

cana—седая 299, *A. leucodes*—П. бе-
леющая 145, 298; *A. maicaga*—П. майка-
ра, *A. maritima* var. *astrachanica*—при-
морская астраханская, *A. pauciflora*—
черная, бедноцветковая, *A. pontica*—
понтйская, *A. scoparia*—метельчатая,
A. serotina giana—осенняя, *A. Siever-
siana*—Сиверса, *A. sublessingiana*—ско-
жая, *A. taurica*—таврическая 298, 299;
A. Szovitsiana—П. Шовица 102;
A. terrae albae—П. белоземельная 145,
299; *A. turanica*—П. туранская 299;
A. vulgaris—Чернобыльник, п. обык-
новенная 426)
Asarum—Копытень (*A. europaeum*—евро-
пейский, *A. Sieboldi*—Зибольда) 175
Asclepias—Ваточник, ластовень (*A. syria-
ca*—сирийский, *A. tuberosa*—клубне-
носный) 56
Asparagoideae—Спаржевые (подсемейство
лилейных) 203
Asparagus—Спаржа (*A. dahuricus*—даур-
ская, *A. officinalis*—лекарственная)
367, табл. XII, рис. 4
Aspergillus—Плесневой грибок аспергиллюс
96
Asperula odorata—Ясменник душистый 453
Asphodeline—Асфоделина 203
Alsidium helminthochortos—Альвидиум 69
Aspidium filix mas—Папоротник муж-
ской 275, 315
Aster—Астра (*A. alpinus*—альпийская,
A. altaicus—алтайская, *A. amellus*—
дикая, *A. tataricus*—татарская) 27,
табл. XIX, рис. 5
Astragalus—Астрагал (*A. densissimus*—
плотнейший, *A. microcephalus*—мелко-
головчатый, *A. pileocladus*—густо-
ветвистый, *A. strictifolius*—прямолист-
ный, *A. turcomanicus*—туркменский) 26
Astrantia major—Астранция большая 27
Athrotaxis seleginoides—Атротаксис 400
Atragene ochotensis—Княжик охотский,
(*A. sibirica*—сибирский) 164, табл. XIII,
рис. 2
Atropa belladonna—Белладонна, красав-
ка, сонная одурь 37—39
A. caucasica—Б. кавказская 271, 278, 312
Avena sativa—Овес 262, табл. VIII, рис. 4
Azadirachta indica—Мелия индийская 230
Azalea pontica—Азалия понтийская (ро-
додендрон желтый) 328

В

Bacillus brevis var. *G.-B.*—Бацилла бре-
вис 21
B. mesentericus—Б. мезентерикус 88
B. mycoides—Б. миконидес 88
B. subtilis—Б. субтилис 88
Bacterium prodigiosum—Бактерия «чу-
десная палочка» 21
B. proteus vulgaris—Б. протеус 88
Banisteria Caapi, *B. guianensis*—Банисте-
рия 198, 254
Bellis perennis—Маргаритка 223
Berberis—Барбарис (*B. declinata*—скло-
ненный, *B. heteropoda*—равноножи-
вый, *B. sibirica*—сибирский, *B. vul-
garis*—обыкновенный) 33

- Bergenia crassifolia*—Бадан 29, 381
Beta vulgaris—Свёкла 342
Betonica officinalis—Буквица аптечная 51, 98, табл. VII, рис. 4
Betula—Берёза 40, 356
Bidens tripartita—Черёда трехраздельная 425
Blakstonia perfoliata—Зеленка, блакстония 90
Blumea balsamifera—Блюмса 46, 73
Boletus satanas—Сатанинский гриб 96
Borassus—Борассус (пальма) 274
Borrigo officinalis—Огуречная трава 262
Bosvelia Carteri—Босвеллия 357
Brassica juncea—Горчица сарептская 92, 313
B. napus var. *esculenta*—Брюква 322
B. napus var. *oleifera*—Рапс 322
B. nigra—Горчица черная 93
Bryonia—Переступень (*B. alba*—белый, *B. dioica*—двулодный) 283
Bupleurum rotundifolium—Володушка круглолистная табл. IX, рис. 2
Bupleurum scorzonerifolium—Володушка скорзонеролистная 70
Burseraceae—Бурсеровые 173
Buxus sempervirens—Самшит 338, 389

С

- Cactaceae*—Кактусовые 142
Caesalpinioideae—Цезальпиниевые (подсемейство бобовых) 42
Calaminthe officinalis—Душевик, пахучка аптечная 98, 99
Calendula officinalis—Ноготки 257
Calla palustris—Белокрыльник болотный 39
Callistephus—Астры (садовые) 27
Callitris quadrivalvis—Каллитрис 356
Calluna vulgaris—Вереск обыкновенный 59
Caltha—Калужница (*C. palustris*—болотная, *C. polypetala*—многолепестная) 143
Calystegia sepium—Вьюнок заборный 76
Camelina sativa—Рыжик 337
Camellia—Камелия (*C. japonica*—японская, *C. sasanqua*—сасанква) 144
C. assamica—Чайный куст ассамский, *C. sinensis*—Чайный куст китайский) 422
Cannabum—Секция рода *Asopitum* 46
Cannabis indica—Индийская конопля 174, 253, 313
C. sativa—Конопля посевная 174
Caninae—Собачья (секция рода шиповник) 439
Carsella bursa pastoris—Пастушья сумка 279
Capsicum—Перец стручковый (*C. annuum*—однолетний, *C. baccatum*, или *C. cerasum*—ягодный, или кайенский, *C. cydoniiforme*—айвовидный, *C. minimum*—маленький) 279, 283
Carapodium platycarpum—Караподиум 148
Cardamine amara—Сердечник горький, *C. pratensis*—сердечник луговой 181
Carduus benedictus—Волчец кудрявый 70
Carex arenaria—Осока песчаная 270
Carica papaya—Карика папайя 236
Carlina acaulis—Колосчатник бесстебельный, *C. vulgaris*—К. обыкновенный 173
Carpotroche brasiliensis—Карпотрох 409
Carthamus tinctorius—Сафлор 339
Carum ajowan—Ажгон 8
C. carvi—Тмин 387, 446
Caryophyllus aromaticus—Гвоздичное дерево 80
Cassandra—Кассандра, болотный мирт 59
Cassia—Кассия, сенна (*C. acutifolia*—остролистная, *C. angustifolia*—узколистная, *C. obovata*—туполистная) 42, 147
Cassiope—Кассиопея 59
Castanea sativa—Каштан настоящий 151
Caulophyllum robustum, *C. thalicroides*—каулофиллум 149, 150
Celastraceae—Бересклетовые 100
Centaurea cyanus—Василёк синий, *C. montana*—В. горный 55
Centaurea picris—Горчак 92
Cephaelis ipecacuanha, *C. acuminata*—Ипекакуана, рвотный корень 138
Cephalophora aromatica—Цефалофора 418
Cerasus—Вишня (*C. austera*—кислая, *C. fruticosa*—кустарная, степная, *C. japonica*—уссурийская, японская, *C. thalictroides*—антипка, *C. tomentosa*—войлочная, *C. vulgaris*—обыкновенная) 66
Ceratonla siliqua—Рожковое дерево 42
Cercis siliquastrum—Иудино дерево, багрянник стручковый 42
Cereus grandiflorus—Кактус крупноцветный 142, 173
Cetraria cucullata—Лимайник 209
C. islandica—Исландский мох 139, 209
Chaerophyllum—Бутень (*C. bulbosum*—клубненосный, *C. Prescottii*—Прескотта, *C. temulum*—одуряющий) 51
Chamaenerium angustifolium—Кипрей узколистный, иван-чай 287
Cheiranthus—Желтофиоль (*Ch. alpinum*—альпийский, *Ch. cheiri*—обыкновенный, *Ch. Senoneri*—Зеновера) 119
Chelidonium—чистотел (*Ch. grandiflorum*—крупноцветный, *Ch. majus*—большой) 429, 430
Chenopodium ambrosioides—Марь душистая, амброзиевидная 81, 224, 445
Ch. anthelminticum—М. противоглистная, *Ch. suffruticosum*—М. полукустарниковая 224
Chimaphila umbellata—Зимлюбка зонтичная 130
Chlora perfoliata—Зеленка провишеннолистная 90
Chondrus crispus—Хондрус 69
Chondrodendron plathyphyllum—Хондодендрон широколистный 105, 415
Chrozophora gracilis—Хрозофора 105, 415
Chrysanthemum balsamita—Канулер, калуфер 146
Ch. cinerariaefolium—Ромашка далматская, *Ch. roseum*—Р. кавказская или розовая, *Ch. roseum* var. *carneum*—

Ромашка персидская, или мясокрасная 331, 332, табл. XVIII, рис. 1 и 3
Cichorium intybus—Цикорий 419
Cicuta virosa—Цикута, веж ядовитый, омер болотный 59, 313, 315, 317
Cimicifuga racemosa—Клоповница 164
Cinchona Ledgeriana, *C. succirubra*—Хинное дерево 174, 411, 412
Cinnamomum—Корианне (секция рода шиповник) 437
Cinnamomum camphora—Камфорное дерево, камфорный лавр 107, 145, 400
C. cassia—Корица китайская, кассия 177
C. pedunculata—Лавр цветоножковый 226
Cinnamomum zellanicum—Корица цейлонская, коричное дерево 177
Cistus—Ладанник (*C. salviaefolium*—шалфейлистный, *C. tauricus*—крымский) 192
Citrus—Цитрусовые 420, 421
C. aurantium—Померанец горький, бигарадия 299, 445
C. aurantium var. *myrtifolia*—Миртолистный апельсин 300
C. bergamia—Бергамот 40
C. deliciosa—Мандарин итальянский 223
C. limonia—Лимон 204, 405
C. medica—Цитрон 420
C. nobilis—Мандарин кинг 223, 445
C. reticulata—Мандарин 222, 223
C. sinensis—Апельсин 22
C. unshiu Мандарин уншиу 223, 445
Citrullus colocynthis—Колоцинт 166
Cladonia rangiferina—Олений мох 208, 209
Cl. allvatica—Кладония лесная 209
Claviceps purpurea—Спорынья 96, 183, 315, 368
Clematis—Ломонос (*Cl. angustifolia*—узколистный, *Cl. flammula*—жгучий, *Cl. integrifolia*—цельнолистный, *Cl. manschurica*—манчжурский, *Cl. orientalis*—восточный, *Cl. pseudoflammula*—ложножгучий, *Cl. recta*—прямой, *Cl. tangutica*—тангутский, *Cl. vitalba*—вьющийся) 210, табл. XIII, рис. 4
Cnicus benedictus—Волчец кудрявый, кардобенедикт 70
Cochlearia arctica—Ложечная трава 210
Cocos nucifera—Кокосовая пальма 274
Coffea arabica, *C. liberica*—кофейное дерево 179
Cola acuminata, *C. Ballayi*, *C. vera*, *C. verticillata*—Кола 70, 166
Colchicum—Безвременник, зимовник (*C. autumnale*—осенний, *C. montanum*—горный, *C. speciosum*—красивый) 34, 35, 312
Collinsonia canadensis—Коллинсония 166
Coluria geoides—Колюрия 172, 400, 445
Colutea—Пузырник (*C. arborescens*—древовидный, *C. cilicica*—крымско-кавказский, *C. creuata*, *C. orientalis*—восточный) 319
Commiphora—Комифора (*C. abyssinica*—абиссинская, *C. africana*—африканская, *C. molmol*—мольмоль, *C. myrrha*—мира *C. orobalsamum*—бальзамная, *C. Schimperi*—Шимпера) 173
Compositae—Сложноцветные 355

Conium maculatum—Болитолов 45, 271, 315, табл. IX, рис. 1
Convallaria majalis—Ландыш 193, 314
Convolvulus—Вьюнок (*C. Ammani*—Амманов, *C. argensis*—полевой, *C. nil-goluboy*, *C. sagittifolium*—стрелолистный, *C. sepium*—заборный) 78
C. scammonia—Скаммоний 351
Convolvulus subhirsutus—Тысячеголовник 392
Coraifera—копайфера (*C. coriacea*—коровая, *C. guyanensis*—гвианская, *C. Lanthsdorfii*—Лансдорфа) 33, 42, 356
Copernicia cerifera—Коперниция, восконосная пальма 449
Coriandrum sativum—Кориандр 176, 271, 446
Cornus—Дёрен (*C. circinata*—пирпината, *C. florida*—флоридский, *C. mas*—кизил, *C. sibirica*—сибирский) 104, 105
Coronaria flos cuculi—Дрёма, кукушкин цвет 107
Coronilla varia—Вязель 77, табл. III, рис. 3
Corydalis cava, *C. nobilis*—Хохлатка 414
Cotinus coggygria—Скумпия 180, 376
Cotoneaster vulgaris—Кизильник обыкновенный 330, табл. XVII, рис. 1
Crataegus—Боярышник (*Cr. altaicus*—алтайский, *Cr. monogyna*—одностолбчатый, *Cr. oxycantha*—колючий, *Cr. pinnatifida*—перистый, *Cr. sanguisorba*—кровохлебковый) 48
Crocus—Шафран (*C. Korolkovi*—Королюкова, *C. Michelsoni*—Михельсона, *C. Pallasi*—Палласа, *C. sativus*—посевной, *C. speciosus*—красивый, *C. valliscola*—долинный) 434
Croton tiglium—Кротон 184
Cucurbita maxima, *C. pepo*—Тыква 391
Cuminum cymicidum—Кумин 187
Cuscuta europaea—Повилека 294
Cydonia oblonga—Айва 10
Cyclamen europaeum—Цикламен европейский 419
Cymbopogon citratus—Сорго лимонное 24, 445
Cymbopogon Martini—Пальмороза 25
C. nardus—Цитронелла 25
Cynanchum—Ластовень (*C. nigrum*—черный, *C. roseum*—розовый, *C. sibiricum*—сибирский, *C. vincetoxicum*—обыкновенный) 194
Cynoglossum divaricatum, *C. officinale*—Чернокорень 427
Cyperus esculentus—Чуфа 226, 430
Cypripedium calceolus—Башмачок 270, табл. XV, рис. 3
Cytisus—Ракитник (*C. nigricans*, *C. ruthenicus*) 322
C. laburnum—Золотой дождь 312

D

Daphne—Волче лыко (*D. speogum*—боровое, *D. mezereum*—обыкновенное) 71
Datura—Дурман 27, 111, 112, 278, 313
D. arborea—Дурман древесный 278

- D. metel*—Д. метель (индийский, *D. meteloides*—метелёндес, американский) 112, 278
D. quercifolia—Д. дуболистный 112
D. stramonium—Д. обыкновенный 111, 278, 313
D. tatula—Д. татуля 278
Daucus carota—Морковь 238
Deguelia, см. *Derris*
Delphinium—Живокость, шпорник 122, 137
D. Ajacis—Аяксова 122
D. consolida—Ж. посевная, рогатый василек 122, 285
D. elatum—Ж. высокая 123
D. semibarbatum—Ж. полубородатая 123, 180
D. staphysagria—Стафизагрия 374
Derris—Деррис (*D. elliptica*—эллиптический, *D. malaccensis*—малакский) 105
Descurainia sophia—Гулявник стручатый 99
Desmarestia aculeata—Десмарестия 69
Dianthus—Гвоздика (*D. caryophyllus*—садовая, *D. chinensis*—китайская, *D. superbus*—пышная, *D. versicolor*—стебельная разноцветная) 79, 80
Digitalis—Наперстянка (*D. ambigua*—сомнительная, *D. ferruginea*—ржавая, *D. grandiflora*—крупноцветная, *D. lanata*—шерстистая, *D. lutea*—желтая, *D. purpurea*—жилковатая, *D. purpurea*—красная) 249, 314, табл. XIV, рис. 1, 2
Dictamnus fraxinella—Яснец 452
Diosclea—Диоклея 105
Dioscorea polystachia—Диоскорея (*D. saucasica*—кавказская, *D. villosa*—волосистая) 105
Diospyros—Хурма 415, 416
Dodardia orientalis—Додардия восточная 105
Dorema—Дорема (*D. ammoniacum*—аммонийная, *D. aureum*—золотая, туркменская, *D. Aucheri*—Ошери) 106
Draconcephalum ibericum—Ляллеманция 216
D. moldavicum—Змееголовник 132
Drosera—Роснянка (*D. anglica*—английская, *D. intermedia*—средняя, *D. rotundifolia*—круглолистная) 354
Dryopteris filix mas—Папоротник мужской, щитовник мужской 275
D. spinulosa—папоротник щетиный 275
Duboisia myoporoides, *D. Hopwoodii*—Дубоизия 27, 278
- Е
- Ecballium elatericum*—Башенный огурец 41
Echinacea angustifolia, *E. purpurea*—Эхинацея 449
Echinops—Мордовник (*E. dahuricus*—даурский, *E. Gmelini*—Гмелина, *E. ritro*, *E. ruthenicus*—русский) 238
Echium vulgare—Румянка 335
Elais—Масличная пальма 274
- Eleagnus angustifolia*—Лох узколистный 211
Elettaria cardamomum—Кардамон 318
Ephedra—Хвойник, эфедра (*E. distachya*—двухколосковый, кузьмичева трава, *E. equisetina*—хвойник хвощевой, *E. intermedia*—средний, *E. procera*—рослый) 70, 409, 410
Equisetales—Хвощевые 410
Equisetum—Хвощ (*E. arvense*—полевой, *E. hiemale*—зимний, *E. palustre*—болотный, *E. pratense*—луговой) 410, 411
Eremurus Olgae, *E. Regelii*, *E. robustus*, *E. spectabilis*—Череш, эремурус 203, 426
Erica tetralix—Вереск 59
Ericaceae—Вересковые 59
Erigeron acer, *E. canadensis*—Малкопестник 230, 231
Erodium cicutarium, *E. Stephanianum*—Аистник 9, 10
Eryngium aquaticum—Синеголовник водяной, *E. maritimum*—С. морской, *E. planum*—С. плоский 349
Erysimum—Желтушник (*E. altaicum*—алтайский, *E. canescens*—серый, *E. cheiranthoides*—левкойный, *E. Marschallianum*—Маршалла) 119
Erythraea centaureum, *E. pulchella*—Золототысячник 132, 133, табл. VI, рис. 2
Erythroxylaceae—Эритроксилонные 165
Erythroxylon coca, *E. poyogranatense*—Кокановый куст 165, 173
Eschscholtzia californica—Эшшольция 449
Eugenia caryophyllata—Гвоздичное дерево 80
Eucalyptus—Эвкалипт 154, 442, 443, 446
Euchema—Евхема (водоросль) 69
Eucommia ulmoides—Евкоммия 100
Eupatorium—Посконник (*E. aromaticum*—ароматичный, *E. cannabinum*—конопляный, *E. perfoliatum*—пронзеннолистный, *E. purpureum*—красный) 301, 302
Euphorbia balsamifera—Молочай бальзамный 238
E. biglandulosa—М. жёсткий 238
E. cyparissias—М. кипарисовый 238
E. Gerardiana—М. красильный 180
E. lathyris—М. масличный 238
E. resinifera—М. резиноносный 238
E. soongarica—М. джунгарский 238
E. virginata—М. обыкновенный 238
Euphrasia—Очанка 272
Evernia prunastri—Дубовый мох 209
Evonymus verrucosus—Бересклет бородавчатый 100
Exogonium jalapa—Ялапа, нпомея 139
- F
- Fagopyrum*—Гречиха (*Fagopyrum esculentum*, или *F. sagittatum*—гречиха посевная, *F. subfruticosa*—полукустарниковая, *F. tataricum*—татарская) 95
Fagus—Бук (*F. orientalis*—восточный, *F. silvatica*—лесной) 50

Feijoa selloviana—Фейхоя 399
Ferula—Ферула, смолоносница (*F. al-*
lasea—луковая, *F. assa-foetida*—ас-
 сафетида, *F. bardakema*—бардакем-
 ская, *F. erubescens*—иранская, *F. fo-*
etidissima—алювиальная, *F. galbani-*
fera—гальбаносная, *F. karlavica*—
 картауская, *F. moschata*—мускусная,
F. schair—шаир, *F. sumbul*—мускус-
 ная) 403
Ficus carica—Инжир, смоковница, ви-
 ная ягода 136
F. elastica—Фикус 173
Filago arvensis—Жабник 377
Filipendula—Таволга (*F. hexapetala*—
 шестилистная, *F. ulmaria*—вязовая)
 379, 380
Flacourtiaceae—Флакуртовые 409
Foeniculum vulgare—Фенхель 401, 446
Fomes (Polyporus)—Губка древесная 98
F. fomentarius—Трутовик 98, 98
F. ignarius—Трут ложный 98
F. laricis—Губка лиственничная 98, 98
F. pinicola—Трут сосновый 98
Forsythia—Форсия 336
Fortunella—Кинкан 153
Fragaria grandiflora, *Fr. vesca*—Земля-
 ника 129
Frangula alnus—Крушина ломкая 185
Fraginus—Ясень (*Fr. americanus*—амер-
 иканский, *Fr. excelsior*—высокий,
Fr. opus—манноносный, *Fr. rotundi-*
folius—круглолистный) 223, 453
Fritillaria—Рябчик 337
Fucus—Фукус (бурая водоросль) 338
Fumaria capreolata—Дымянка козья, *F.*
officinalis—Д. аптечная, *F. Vaillantii*—
 Д. Вайана 113
Fungi—Грибы 95
Funkia—Функия 213

G

Gagea—Гусиный лук 203
Galanthus—Подснежник (*G. nivalis*—
 белый, *G. plicatus*—обыкновенный
 складчатый) 17, 296, 297, табл. II,
 рис. 2
Galega—Ковлятник (*G. officinalis*—лекар-
 ственный, *G. orientalis*—восточный)
 164
Galeopsis—Пикульник (*G. ladanum*—
 ладанный, *G. ochroleuca*—бледножел-
 тый, *G. tetrahit*—обыкновенный) 98,
 226
Calium—Подмаренник (*G. araric*—пеп-
 кий, *G. boreale*—северный, *G. mol-*
lugo—мягкий, *G. verum*—настоящий)
 180, 294, 295
Gallicae—Галльские (секция рода шипов-
 ник) 440
Gaultheria procumbens—Гаультерия 79
Gelidium—Гелидум (водоросль) 69
Gelsemium sempervirens—Гельземум
 80
Genista tinctoria—Дрок красильный 108,
 180, табл. III, рис. 1.
G. transcaucasica—Д. закавказский 180
Gentianaceae—Горечавковые 90

Gentiana—Горечавка (*G. caucasica*—кав-
 касская, *G. lutea*—желтая, *G. Oli-*
vieri—Оливьера, *G. pneumonanthe*—
 лазуревая, *G. scabra*—шероховатая,
G. verna—весенняя) 90, табл. VI,
 рис. 1 и 4
Gentianoideae—Генциановые (подсемей-
 ство горечавковых) 90
Geraniaceae—Гераневые 445
Geopora fulgens—Геснера 285
Geum—Гравилат (*G. aleppicum*—алепп-
 ский, *G. macrophyllum*—крупнолист-
 ный, *G. rivale*—речной, *G. urbanum*—
 городской) 93, табл. XVII, рис. 4
Gigartina mamillata—Гигартина 69
Gigartinaceae—Гигартиновые 406
Glaucium corniculatum—Мачёк рога-
 тый (*G. fimbriatigerum*—бахромчатый, *G.*
flavum—желтый) 227
Glechoma hederacea—Будра 98, табл. VII,
 рис. 1.
Gleditsia triacanthus—Гледичия 42, 43
Glycine hispida—Соя 387
Glycyrrhiza glabra—Солодка гладкая,
G. uralensis—С. уральская 359, 360
Gnaphalium luteo-album—Сутеница жел-
 товатая-белая, *G. silvaticum*—С. лес-
 ная, *G. uliginosum*—С. топяная 377,
 378
Goebelia, см. *Sophora*
Gomphocarpus fruticosus—Гомфокарпус
 88
Gossypium—Хлопчатник 412
Gracilaria—Грапилярия (водоросль) 69
Gramineae—Злаковые, злаки 131, 445
Gratiola officinalis—Аврая аптечный 5
Grindelia robusta—Гринделия 97
Guisotia abyssinica—Гвизотия 79
Guajacum officinale, *G. sanctum*—Бакаут-
 ое дерево, гваяковое дерево 31, 107
Gymnadenia conopsea—Кукушкин ко-
 марниковый 454
Gymnogongrus—Griffithiae—Гимногон-
 грус 22, 69
Gypsophila paniculata—Качим 245, 246

H

Haematoxylon campechianum—Кампе-
 шевое дерево 107
Hagenia abyssinica—«Куссо», гагения
 абиссинская 80
Halostachys caspica—Соляноклоосник
 прикаспийский 136
Halospermum strobilaceum—Сарсазан
 шишковатый 136
Hamamelis virginiana—Гамамелис 78
Helianthus annuus—Подсолнечник 297
Helichrysum aeneum—Бессмертник
 песчаный, цмин 41
Heliotropium europaeum—Гелиотроп
 европейский, *H. lasiocarpum*—Г. пу-
 шистоплодный, *H. peruvianum*—Г.
 перувианский, *H. Stevenianum*—Г.
 Стивена 80
Helleborus—Морозник 239
Helvella esculenta—Строчок съедобный
 316
Heimerocallis—Красоднев 263

- Heracleum villosum*—Борщевик мохнатый, выемчатолистный 47, 446
H. sphondylium—Борщевик 449
Herniaria—Грыжник (*H. glabra*—гладкий, *H. hirsuta*—волосистый *H. odorata*—душистый) 97
Hesperis matronalis—Ночная фиалка табл. XI, рис. 3
Hevea brasiliensis—Гевея бразильская 150, 236
Hieracium odorata—Зубровка душистая 133
Hippophae rhamnoides—Облепиха крупшиновидная 261
Hordeum vulgare—454
Humulus lupulus—Хмель 413
Hydnocarpus—Гиднокарпус 409
Hydrangea—Гортензия 336
Hydrastis canadensis—Желтокорень канадский 118, 183
Hydrocotyle asiatica, *H. vulgaris*—Гидрокотиле 86
Hyoscyamus—Белена (*H. agrestis*—полевая, *H. albus*—белая, *H. muticus*—египетская, *H. niger*—черная, *H. pusillus*—маленькая, *H. reticulatus*—сетчатая) 27, 35, 36, 271, 278, 312
Hypericum ascyron, *H. attenuatum*, *H. perforatum*, *H. quadrangulum*—Зверобой 129
Hyssopaceae—Зерновиковые 368
Hyssopus officinalis—Иссоп 99, 140

I

- Iberis amara*—Разнолепестник горький 321
Illicium verum—Бадьян, звездчатый анис 30, 400
Inula helenium—Девясил высокий 102
Ipsomea—Ипомея, ялапа (*I. hederacea*—плющевая, *I. orizabensis*—оризонская, *I. purga*—слабительная, *I. turpethum*—индийская) 139
Iridaceae—Касатиковые, присовые 445
Iris—Касатик, ирис (*I. dichotoma*—вилчатый, *I. ensata*—мечевидный, *I. flavissima*—желтейший, *I. florentina*—флорентийский, *I. germanica*—германский; *I. pallida*—бледный, *I. ruthenica*—русский, *I. sibirica*—сибирский, *I. versicolor*—разноцветный) 147, 445

J

- Jasminum*—Жасмин (*J. grandiflorum*—крупноцветный, *J. odoratissimum*—душистый, *J. officinale*—настоящий, *J. sambac*—арабский) 117, 173, 446
Juglans—Орех (*J. cinerea*—серый, *J. manshurica*—маньчжурский, *J. regia*—грецкий) 180, 269, 270
Juniperus—Можжевельник (*J. communis*—обыкновенный, *J. dahurica*—даурская, *J. excelsa*—высокий, *J. oxycedrus*—красный, *J. polycarpus*—многоплодный, *J. pseudosabina*—ложноказапкий, *J. sabina*—казапкий, *J. semiglobosa*—полшаровидный) 180, 236, 237, 314

K

- Kalmia*—Кальмия (*K. angustifolia*—узколистная, *K. glauca*—сизая, *K. latifolia*—широколистная) 143
Korolkowia Severzowii—Корольковия (рябчик) Северцова 337
Krameria triandra—Крамения, ратания 42

L

- Labiatae*—Губоцветные 98, 446
Laburnum anagyroides—Ракитник, золотой дождь 322
Lachnanthes tinctoria—Лакхнантес
Lactuca—Латук (*L. altissima*—высокий, *L. scariola*—компасный, *L. stricta*—прямой, *L. versicolor*—разноцветный, *L. virosa*—ядовитый) 195, табл. XIX.
L. sativa—Салат, латук посевной 195 рис. 2
Lallemantia iberica—Ляллеманция 216
Laminaria—Ламинария (водоросль) 69, 138, 193, 223
Lamium album—яснотка, глухая крапива 99, 453
Lampsana communis—Бородавник обыкновенный 46, 47
Larix—лиственница (*L. decidua*—европейская, *L. dahurica*—даурская, *L. sibirica*—сибирская) 207
Laserpitium hispidum—Гладыш, лазурник жестковолосистый 87
Lathyrus pratensis—Чина луговая, *L. sativus*—Ч. посевная) 428, 429
Lauraceae—Лавровые 445
Laurocerasus—Лавровишня (*L. macrophylla*—крупнолистная, *L. officinalis*—лекарственная) 192, 445
Laurus nobilis—Лавр благородный 191, 445
Lavandula spica, *L. vera*—Лаванда 98, 190, 446
Lavatera thuringica—Хатма тюрингская, дикая роза, собачья роза 409
Lawsonia inermis—Хна 413
Lecanora—Леканора (лишайник) 209
Ledum palustre—Багульник болотный 29, 137
Leguminosae—Бобовые 42, 445
Leonurus—Пустырник (*L. cardiaca*—сердечный, *L. sibiricus*—сибирский, *L. villosus*—мохнатый) 319
L. lanatus—Панперия 99, 320
Lepidium—Кресс, клоповник (*L. bonariense*—бразильский, *L. latifolium*—широколистный, *L. ruderale*—мусорный) 181
Lepidium sativum—Кресс посевной, кресс-салат 181
Leptopyrum fumaroides—Лептопирум дымянковый 202
Leucorum—Белоцветник 17, табл. II, рис. 1
Leuzea carthamoides—Левзея сафлоровидная 195
Levisticum officinale—Любисток, зоря 213
Liliaceae—Лилейные 203

Lilioideae—Лилейные (подсемейство лилейных) 203
Lilium—Лилия (*L. candidum*—бледная, *L. dahurica*—даурская, *L. martagon*—саранка, *L. tenuifolium*—тонколистная, *L. tigrinum*—тигровая) 204, табл. XII, рис. 2
Linaria *burjatica*—Льянка бурятская, *L. vulgaris*—обыкновенная 213
Linum *catharticum*—Лең слабительный 202
L. usitatissimum—Л. обыкновенный 201
Lippia *citriodora*—вербена лимонная, липия 57, 446
Liquidambar *orientalis*, *L. styraciflua*—Ликвидамбар 33, 203
Lobelia *pulmonaria*—Лобария 209
Lobelia—Лобелия (*L. cardinalis*—кардинальная, *L. inflata*—Л. одутлая, *L. sessiflora*—сидяцветковая, *L. urens*—жгучая) 70, 209, 210
Lophophora *Lewinii*—Лофофора, ангалоный 142, 154
Lolium *lincolnum*—Плевел льновыи 293
L. temulentum—П. опьяняющий 131, 292
Lonchocarpus—Лонхокарпус 210
Lonicera—Жимолость (*L. caprifolium*—обыкновенная душистая, *L. coerulosa*—голубая, *L. xylosteum*—лесная) 123
Luffa *acutangula*, *L. cylindrica*—Люффа 216
Lunaria *rediviva*—Лунария 183, табл. XI, рис. 1
Lupinus—Люпин 214
Lycostonium—Секция рода *Aconitum* (борец) 45
Lycoperdon *bovista*—Гриб дождевик 96, 105
Lycopodium *clavatum*—Плаун булавовидный, *L. annotinum*—П. годичный 180, 291
Lycopus *eurogaeus*—Зюзник европейский 99, 133
L. lucidus—З. дальневосточный, *L. virginiana*—з. виргинский 133
Lysimachia—Вербейник (*L. dahurica*—даурский, *L. nummularia*—луговой чай, *L. vulgaris*—обыкновенный) 57
Lychnis *githago*—Куколь 186

М

Magnolia—Магнолия (*M. denudata*—обнаженная, *M. fuscata*—фуската, михелия буроватая, *M. glauca*—сизая, *M. grandiflora*—крупноцветная, *M. obovata*—туполистная, *M. virginiana*) 217
Malva—Мальва (*M. borealis*—северная, *M. neglecta*—обыкновенная, *M. pulchella*—красивая, *M. pusilla*—прива-мистая, *M. rotundifolia*—круглолистная, *M. silvestris*—лесная, вензавер) 291
Mallotus *philippinensis*—Маллот филиппинский 81
Malus—Яблоня (*M. baccata*—ягодная, *M. domestica*—домашняя, *M. prunifolia*—сливолистная, *silvestris*—лесная) 450

Mandragora—Мандрагора (*M. autumnalis*—осенняя, *M. officinarum*—настоящая, *M. turcomanica*—туркменская) 27, 223
Marschallia *polymorpha*—Маршанния 245
Marsdenia *condurango*—Кондуранго 174
Marrubium *vulgare*—Шандра обыкновенная 98, 434
Matricaria *chamomilla*—Ромашка аптечная 285, 331, табл. XVIII, рис. 2
M. discoidea, или *Matricaria suaveolens*—Р. безлепестная, 331
Melampyrum—Марьянник (*M. arvense*—полевой, *M. nemorosum*—дубровный, иван-да-марья, *M. pratense*—луговой, *M. silvaticum*—лесной) 224
Melanthioideae—Осенниковые (подсемейство лилейных) 203
Melia *azadirachta*, *M. azederach*, *M. indica*, *M. toosendan*—Мелия 230
Melica—Перловник 131.
Melilotus—Донник (*M. albus*—белый, *M. altissimus*—высокий, *M. dentatus*—зубчатый, *M. officinalis*—аптечный) 106, табл. III, рис. 4
Melissa *officinalis*—Мелисса, лимонная мята 229
Mentha *crispa*—Мята кудрявая 248
M. piperita—М. перечная 99, 246, 446
M. pulegium—М. пулегиевая 248
Menyanthoideae—Менянтовые (подсемейство горечавковых) 90
Menyanthes *trifoliata*—Вахта, трифоль 56, табл. VI, рис. 3
Mercurialis—Перелеска (*M. annuus*—однолетняя, *M. perennis*—многолетняя) 291
Merendera *Eichleri*, *M. Jolantae*, *M. robusta*, *M. sobolifera*, *M. trigyna*—Мерендера 231
Michelia *fuscata*—Магнолия буроватая, михелия 217
Mimosoideae—Мимовые (подсемейство бобовых) 42
Miristica *fragrans*—Мускат 318
Monarda *citriodora*—Монарда лимонная 400
M. punctata—М. точечная 90, 40, 238
M. fistulosa—М. трубчатая 400
M. didyma—М. золотая 285
Monilia—Дрожжи кормовые 108
Morus *alba*—Шелковица белая 180
Muretia *lutea*—Муретия желтая 243
Mycetes—Грибы 95
Muroxylon *balsamum*—Мироксилон 33, 43, 356
Myrtaceae—Миртовые 446
Myrtus *communis*—Мирт обыкновенный 236

N

Napellus—Секция рода *Aconitum* (борец) 45
Narcissus—Нарцисс (*N. jonquilla*—жон-киль, *N. poeticus*—поэтический, *N. pseudonarcissus*—ложнонарциссовый) 254, табл. II, рис. 3 и 4
Nasturtium *officinale*—Кресс водяной, жеруха лекарственная 122, 181

Nelumbium nuciferum—Лотос 211
Neotia nidus avis—Гнездовка [270] табл. XV, рис. 2
Nerium oleander—Олеандр обыкновенный 264
Nigella damascena—Чернушка дамасская, *N. sativa*—Ч. посевная 427
Nicotiana glauca—Табак сизый 19, 227
N. tabacum—Т. настоящий 317, 379. табл. XVI, рис. 1
N. rustica—Махорка 227, 316
Nuphar luteum—Кубышка желтая 186
Nymphaea alba—Кувшинка белая 186

O

Ocimum—Базилик (*O. basilicum*—огородный, *O. gratissimum*—евгенольный, *O. menthaefolium*—камфорный, *O. suave*—евгенольный, *O. viride*—зеленый) 30, 31, 98, 99, 400, 446
Oenanthе aquatica—Омежник водяной, *O. crotata*—О. шафранный, *O. fistulosa*—О. трубчатый 265
Olea europaea, *O. oleaster*—Маслина 225
Ononis spinosa—Стальник 371, табл. III, рис. 2
porodon asanthium—Татарник, будяк обыкновенный 381, табл. XIX, рис. 1
Orphella diluta—Офелия 90
Orchis—Ятрышники (*O. latifolia*—широколиственный, *O. maculata*—пятнистый, *O. mascula*—мужской, *O. militaris*—шлемовидный, *O. morio*—дремлик) 453, 454, табл. XV, рис. 1 и 4
Orchidaceae—Орхидные 270
Origanum majorana—Майоран 98, 217, 446
O. vulgare—Душица обыкновенная 99, 112
Orthosiphon stamineus—Чай почечный 99, 270
Oryza sativa—Рис 327, табл. VIII, рис. 1
Oxalis acetosella—Кислица обыкновенная 154
Oxycoccus palustris, *O. quadripetalus*—Клюква 59, 164, табл. IV, рис. 2
Oxytropis—Остролодочник (*O. glabra*—гладкий, *O. leptophylla*—тонколиственный, *O. myriophyllum*—многолистный, *O. muricata*—остроконечный, *O. oxyphylla*—остролистный, *O. Stukovi*—Стукова) 270, 271

P

Padus—Черёмуха (*P. asiatica*—азиатская, *P. racemosa*—обыкновенная, *P. virginiana*—виргинская) 425, 426
Paeonia—Пеон, пион (*P. albiflora*—белый, **P. anomala*—Марьян корень, *P. officinalis*—п. лекарственный) 288
Palmae—Пальмы, 274
Pangium edule—Пангум 409
Palmeria—Пальмерия (лишайник) 209
Panax ginseng, *P. quinquefolium*, *P. repens*—Жень-шень 121, 122
Paraver somniferum—Мак 218, 219
Papilionatae—Мотыльковые (подсемейство бобовых) 42

Paris hexaphylla—Вороний глаз шестилистный, *P. incompleta*—В. г. неполный, *P. quadrifolia*—В. г. четырехлистный 71
Parthenium argentatum—Гваюла 150, табл. X, рис. 1
Pastinaca sativa—Пастернак 449
Patrinia intermedia—Патриния 279
Pedicularis—Мытник (*P. comosa*—хохлатый, *P. palustris*—болотный, *P. silvatica*—лесной) 246
Peganum harmala—Гармала, могильник, адраспан 78, 196
Pelargonium roseum—Герань розовая душистая 82, 173, 445
Penicillium notatum, *P. chrysogenum*—Пеницилл, плесневый гриб 21, 96
Perilla ocymoides—Перилла, судак 283
Periploca graeca—Обвойник греческий, *P. sericum*—О. заборный 260
Perowskia—Перовския 284
Persea gratissima—Авокадо 226, 400
Petroselinum sativum—Петрушка 284, табл. IX, рис. 4
Peucedanum—Горичник (*P. Chabraei*—Хабрея, *P. officinale*—аптечный, *P. oregonicum*—горный, горная петрушка, *P. ostruthium*—парский корень, *P. salinum*—солончаковый, *P. vaginatum*—влагалищный) 91, 92
Phalaris canariensis—Канареечник 146
Phallus impudicus—Фаллус (гриб) 96
Pharbitis nil—Вьюнок голубой 76
Phaseolus multiflorus, *Ph. vulgare*—Фасоль 399
Phellodendron amurense—Бархатное дерево амурское (пробковое дерево) 137
Philadelphus coronaria—Чубушник 430
Phoenix dactylifera—Пальма финиковая 274
Phyllophora nervosa—Филлофора 69, 406
Physalis alkekengi—Физалис 279, 404
Physoclaena physaloides—Белена сибирская 36, 279
Physostigma cylindrosperma, *Ph. venenosum*—Физостигма, калабарский боб 43, 406
Phytolacca—Фитолакка 407
Picea excelsa, *Picea koraiensis*, *Picea obovata*—Ель 116
Picrasma allanthoides, *P. excelsa*, *P. quassoides*—Квассия, пикрасма 106, 107, 151
Pilocarpus jaborandi, *P. microphyllus*, *P. pennatifolius*, *P. selloanus*—Пилокарпус 174, 287
Pimpinella anisum—Анис 19, 400, 446
P. magna—Бедренец большой, *P. saxifraga*—б. камнеломковый 34
Pimpinellifoliae—Бедренелистные (секция рода шиповник) 439
Pinus—сосна (*P. hamata*—крючковатая, *P. koraiensis*—корейский кедр, *P. pallasiiana*—Палласова, *P. pinaster*—пихта, *P. silvestris*—С. обыкновенная, *P. strobus*—Веймутова) 363, 364
Piper nigrum—Перец черный 283
Pirus communis—Груша 180

Pistacia mutica—Кедровое дерево 383
P. terbinthus—Терпентиновое дерево 383
P. vera—Олеастька настоящая 50, 406
Plantago—Подорожник (*P. amplexicaulis*—стеблеобъемлющий, *P. agnaria*—песчаный, *P. asiatica*—азиатский, *P. cynops*—собачья голова, *P. indica*—индийский, *P. lanceolata*—ланцетный, *P. major*—большой, *P. media*—средний, *P. ovata*—яйцевидный, *P. psyllium*—блосный, *P. ramosa*—ветвистый, *P. salsa*—солончаковый) 296
Platanthera—Любка, ночная фиалка (*Platanthera bifolia*—двулистная, *P. chlorantha*—зеленая) 214
Pleurogyna—Плеврогина 90
Podophyllum Emodi, *P. peltatum*—Подofilл 296
Pogostemon Patchouli—Пачули 279
Polemonium—Синюха (*P. acutiflorum*—остролепестная, *P. boreale*—северная, *P. coeruleum*—лазуревая) 349
Polyanthes tuberosa—Тубероза 390, 445
Polygala—Истод (*P. amara*, *P. amarella*—горький, *P. comosa*—хохлатый, *P. sibiricum*—сибирский, *P. tenuifolia*—тонколистный) 140, 141
Polygala senega—Сенег 348
Polygonaceae—Гречишные 95
Polygonatum—Купена (*P. humile*—карликовая, *P. officinale*—лекарственная, *P. sibiricum*—сибирская) 188, табл. XII, рис. 1
Polygonum alpinum—Таран, горец альпийский, кислец горный 381
P. aviculare—Спорыш, горец птичий 369, 370
P. bistorta—Раковые шейки, змеевик 95
P. bucharicum—Таран бухарский, горец бухарский 381
P. coriarium—Таран дубильный 381
P. dumetorum—Горец кустарниковый, призаборный 88
P. hydropiper—Водяной перец 69, 95, 183
P. persicaria—Трава почечуйная, горец почечуйный 308
P. scabrum—Гречижа щавелелистная, горец шероховатый 95
P. tinctoria—Г. красильная 180
Polyporus (Fomes)—Губка древесная 98
Polytrichum commune—Кукушкин лен 245
Populus nigra—Тополь черный 356, 389
Potentilla erecta (*P. tormentilla*, *P. sili-vestris*)—Лапчатка прямостоячая, дубровка 194
Prangos rabularia—Прангос 308
Primula—Первоцвет, примула (*P. acaulis*—бесстебельный, *P. elatior*—высокий, *P. macracalux*—крупночашечный, *P. officinalis*—аптечный, *P. obconica*—комнатный, *P. Pallasi*—Палласа, *P. Sieboldii*—Зибольда, *P. sibirica*—сибирский) 280, 281
Prunus americana—Слива американская, *P. domestica*—С. домашняя, *P. salicina*—С. китайская 354
P. spinosa—Терн 285, 382

Ptarmica vulgaris—Птармика обыкновенная 393
Pterocarpus—Птерокарпус 153
Pulicaria—Блошница (*P. dysenterica*—провосная, *P. prostrata*—распростертая) 42
Pulmonaria mollissima—Медуница мягкая, *P. obscura*—М. темная, *P. officinalis*—М. лекарственная 229
Pulsatilla—Прострел, сон-трава (*P. dahurica*—даурский, *P. Nuttalliana*—Нуттабианов, *P. patens*—поникший, *P. pratensis*—луговой, *P. Turczaninovi*—Турчанинова) 314, 362
Punica granatum—Гранатник 93
Pyrethrum, см. *Chrysanthemum*

Q

Quassia—Квассия 108, 109, 180
Quercus—Дуб (*Q. mongolica*—монгольский, *Q. pedunculata*, или *Q. robur*—летний, или черешчатый, *Q. sessiflora*—зимний, или сидячецветный) 108, 109, 180
Q. Lusitanica, *Q. infectoria*—Д. лузитанский 109, 381
Q. suber—Д. пробковый 109
Q. tinctoria—Д. красильный 285

R

Ramallaceae—Ветвистые лишайники 111
Ranunculaceae—Лютиковые 215
Ranunculus—Лютик (*R. ascer*—едкий, *R. bulbosus*—клубненосный, *R. glacialis*—льдиный, *R. flammula*—жгучий, *R. japonicus*—японский, *R. pedatifidus*—стоповидный, *R. propinquus*—северный, *R. pulchellus*—красивый, *R. repens*—ползучий, *R. sceleratus*—ядовитый) 211, 215, 314
Raphanus candidus—Редька белая, *R. raphanistrum*—Р. дикая сорная, *R. sativus*—Р. посевная 327
Raphia—Рафия (пальма) 274
Rhamnus cathartica—Крушина слабительная 185
R. frangula (*Frangula alnus*)—К. ломкая 185
Rhaponticum carthamoides (*Leuzea carthamoides*)—Левзея 195
Rheum—Ревень (*R. altaicum*—алтайский, *R. compactum*—компактный, *R. officinale*—лекарственный, *R. palmatum*—дланевидный, *R. rhaponticum*—огородный, *R. undulatum*—волнистый, *R. tanguticum*—тангутский) 324, 325
Rhododendron—Рододендрон (*R. chrysanthum*—золотистый, *R. flavum*—Р. желтый, азалия) 59, 327, 328
Rhoemeria refracta—Ремерия 327
Rhus—Сумах (*R. coriaria*—красильный, кожевенный, *R. cotinus*—Скумпия, *R. glabra*—сумах гладкий, *R. Potanini*—Потанина, *R. radicans*—укореняющийся, *R. semialata*—полукрылатый, *R. succedanea*—восковое дерево, *R. toxicaria*—

- codendron*—сумах ядовитый, *R. vernicifera*—лаковое дерево, *R. vernix*—сумах восковой) 192, 226, 376
Ribes—Смородина (*R. nigrum*—черная, *R. petraeum*—камневая, *R. rubrum*—красная, *R. vulgare*—обыкновенная) 357
Richardsonia brasiliensis—Ричардсония 327
Ricinus communis—Клещевина 161, 271, 316
Robinia pseudoacacia—Акация белая 10
Roccella tinctoria—Рочелла (лишайник красильный) 180, 209
Rosa—Роза, шиповник (*R. acicularis*—иглистый, *R. Beggeriana*—Беггера, *R. canina*—собачий, *R. cinnamomea*—коричневый, *R. davurica*—даурский, *R. Fedtschenkoana*—Федченко, *R. glabrifolia*—гололистый, *R. gallica*—галльский, французский, *R. laxa*—рыхлый, *R. rugosa*—морщинистый, *R. spinosissima*—колючий, *R. Webbiana*—Ш. Уэбба) 63, 120, 435, 437—440
Rosa damascena—Роза дамасская казанлыкская 329, 445
Rosaceae—Розоцветные 330, 445
Rosmarinus officinalis—Розмарин 98, 330, 446
Rubia—Марена (*R. cordifolia*—сердцевиднолистная, *R. tinctorum*—красильная) 22, 180, 223
Rubus caesius—Ежевика 115
R. chamaemorus—Морошка 239
R. fruticosus—Ежевика кустарниковая 115
R. idaeus—Малина 220
R. nessensis—Куманика 115
R. saxatilis—Костяника 116
Rumex—Щавель (*R. acetosa*—кислый, *R. acetosella*—кисловатый, щавелёк, *R. alpinus*—альпийский, *R. crispus*—курчавый, *R. confertus*—конский, *R. Gmelini*—Гмелина, *R. obtusifolius*—туполистный, *R. thyrsiflorus*—пирамидальный) 441
Russula emetica—Сыроежка красная 96
Ruta graveolens—Рута 336
Rutaceae—Рутовые 445

S

- Sacharomycetes cerevisiae*, *S. ellipsoideus*—Дрожжи пивные и винные 96, 108
Sacharomycetaceae—Дрожжевые грибы 107
Salix—Ива (*S. alba*—белая, *S. acutifolia*—красолистная, шелюга красная, *S. caprea*—козья, бредина, *S. daphnoides*—шелюга желтая, *S. fragilis*—ива ломкая, *S. pentandra*—черюштал, *S. viminalis*—корзиночная) 134
Salsola Richteri—Солянка Рихтера 361, 365
S. subaphylla—С. малолистная, *S. collina*—холмовая, *S. Paletzkiiana*—С. Палецкого 362
Salvia officinalis—Шалфей лекарственный 99, 431
Salvia pratensis—Ш. луговой табл. VII, рис. 3.
S. sclarea—Ш. мускатный 98, 432, 446
Sambucus nigra—Бузина черная 50
S. racemosa—Б. красная 180
Sanguisorba officinalis—Кровохлебка лекарственная 184
Santalum album, *S. cygnorum*, *S. spicatum*—Санталовое дерево 107, 338
Sapindaceae—Сапиндовые 150
Saponaria officinalis—Мыльнянка аптечная 245
Sapotaceae—Гуттаперчевые 99
Sarothamnus scoparius—Ракитник венечный 322
Sassafras officinale—Сассифрас 107
Saussurea—Сосюрея 365
Satureja—Чабер 98, 400, 422
Saxifraga bronchialis, *S. granulata*, *S. hirculus*, *S. punctata*—Камнеломка 144, 145
Schoenocaulon officinale, см. *Sabadilla officinarum*
Schizandra chinensis—Лимонник китайский 70, 204
Shorea Wisneri—Даммаровое дерево 357
Scilla—Пролеска (*S. autumnalis*—осенняя, *S. Cooperi*—П. Коопера, *S. Rogersii*—П. Роджерса, *S. nutans*—поникшая) 240, 311.
Scilla maritima—Морской лук 240
Scopolia—Скополия (*S. carniolica*—карниольская, европейская, *S. saucasica*—кавказская, *S. japonica*—японская, *S. lurida*—гималайская, *S. tangutica*—тангутская, 27, 351
Scorzonera tau-saghyz—Тау-сагыз 150, табл. X, рис. 3
Scrophularia alata—Норичник крылатый, *S. nodosa*—Н. голый 258
Scrophulariaceae—Норичниковые 258
Scutellaria—Шлемник (*S. baicalensis*—байкальский, *S. galericulata*—обыкновенный, *S. lateriflora*—бокоцветный, *S. scordifolia*—скордолистный) 99, 440
Secale cereale—Рожь 328
Sedum—Очиток (*S. acre*—едкий, *S. alpinum*—айзон, *S. alpinum*—альпийский, *S. telephium*—Заячья капуста) 273
Senecio—Крестовник (*S. aureus*—золотистый, *S. Fuchii*—Фукса, *S. jacobaea*—луговой, *S. platyphylloides*—широколистный, *S. platyphyllum*—широколистный, *S. vulgaris*—обыкновенный) 181, табл. XIX; рис. 3
Seriphidium—Серифидиевые (секция рода полынь) 299
Sesamum indicum—Кукуруза 188
Silene latifolia (*Silene inflata*)—Смолевка 356
Siler trilobum—Лазурник трехлопастный 192
Silybum marianum—«Остро-пестро», расторопша 271
Sinapis alba—Горчица белая 92
S. arvensis—Г. дикая табл. 11, рис. 4
Sisymbrium—Гулявник (*S. officinale*—аптечный, *S. Sophia*—струйчатый, *S. toxophyllum*—ядовитый) 99

Slum latifolium—Поручейник широколистный 300
Simarubaceae—Симарубовые 151
Smilax—Сассапариль, сарсапарель 203, 204
Smilacaceae—Смилаксовые (подсемейство лилейных) 203
Solanaceae—Пасленовые 278
Solanum—Паслен (*S. dulcamara*—сладкогорький, *S. nigrum*—черный) 316, табл. XVI, рис. 3 и 4.
S. tuberosum—Картофель 146, 278
Solidago virga aurea—Золотая розга 132
Sophora—Софора (*S. alopercuroides*—лисохвостная, *S. flavescens*—желтоватая, *S. japonica*—японская, *S. raphanistrum*—толстоплодная, *S. speciosa*—красивая) 180, 365
Sorbus—Рябина 336
S. aucuparia × *S. alpina*—Бурка, гибрид рябины 337
S. aucuparia × *S. melanocarpus*—Рябина ликерная 337
Sorghum halepense—Гумай 131
Sphaerophysa salsola—Сферофиза 378
Sphagnales—Сфагновые мхи (порядок) 244
Sphagnum—Сфагнум (мох) 244
Spigelia—Спигелия (*S. anthelmia*—противоглистная, *S. marylandica*—марилендская) 367
Spilanthes oleracea—Кресс бразильский 181
Spinacea oleracea—Шпинат 440
Spiraea sorbifolia, *Sorbaria sorbifolia*—Спирея рябинолистная, рябинник рябинолистный 367
Stachys—Чистец (*S. baicalensis*—байкальский, *S. recta*—прямой, *S. silvatica*—лесной) 99, 429
Stellaria glauca, *S. graminea*, *S. holostea*, *S. nemorum*—Звездчатка 128, 129
Stellera chamaejasme—Стеллера 375
Stirax benzoin, *S. tonkinense*—Стиракс 356
Streptotrix griseus—Стрепторикс (штамм актиномицетов) 13, 21
Strophanthus gratus, *S. hispidus*, *S. Kombe*—Строфант 348, 375
Strychnos Ignatii—Игнаций 428
Strychnos nux vomica—Чилибуха, рвотный корень, 189, 196, 317, 428
Sweetia perennis—Швертия многолетняя 90
Symphytum officinale—Окопник аптечный 262
Syrenia sibirica—Сиренья стручковая 350
Syringa—Сирень 350

Т

Tamarindus indica—Тамаринд индийский 380
Tamarix—Тамарикс, гребенщик, (*T. hispida*—щетиный, *T. laxa*—раскидистый, *T. Pallasi*—Палласа, *T. repandens*—пятитычиночный) 380
Tanacetum vulgare—Пижма, дикая рябина 285

Taraxacum kok-saghyz—Кок-сагыз 150, табл. X, рис. 2
T. makalorhizon, var. *gymnanthum*—Крым-сагыз 150
T. officinale, *T. vulgare*—Одуванчик лекарственный 262,
Taxus baccata—Тисс ягодный 385
T. cuspidata—*T. дальневосточный* 386
Tephrosia—Тефрозия 384
Teucrium—Дубровник (*T. chamaedrys*—обыкновенный, *T. creticum*—критский, *T. scordium*—чесночный, *T. scordonia*—чесноковый) 98, 11
Thalictrum aquilegifolium—Василистник водоборостный, *T. flavum*—В. желтый 55, 56
Thea sinensis—Чайный куст 173, 422
Theobroma cacao—Какао, шоколадное дерево 142
Thermopsis—Термопсис (*Th. alpina*—альпийский, *Th. alterniflora*—равноцветковый, *Th. dolichocarpa*—длинноплодный, *Th. fabacea*—бобовый, *Th. lanceolata*—ланцетовидный, *Th. turkestanica*—туркестанский) 271, 316, 382
Thuja occidentalis—Туя 391
Thymus serpyllum—Богородская трава, чебрец 99, 424
Thymus vulgaris—Тимьян 384, 400, 446
Tilia—Липа (*T. grandifolia*—крупнолистная, *T. parvifolia*—мелколистная) 205
Torula—Дрожжи кормовые 108
Trachycarpus excelsa—Трахикарпус (пальма) 275
Tragacantha—Трагакантовые астрагалы 26
Trigonella foenum graecum—Пажитник 274
Triticum—Пшеница 319
Trifolium—Клевер (*T. arvense*—полевой, *T. lupinaster*—люпиновый, *T. pratense*—красный) 158
Trollius europaeus—Купальница, табл. XIII, рис. 3 (к стр. 215)
Tropaeolum—Настурция, капуцин 254
Tulipa—Тюльпан 393, табл. XII, рис. 3
Tussilago farfara—Мать-и-мачеха 226

У

Umbelliferae—Зонтичные 133, 146
Urginea maritima, *U. scilla*—Морской лук 174
Urtica—Крапива (*U. angustifolia*—узколистная, *U. cannabina*—конопляная, *U. dioica*—двудомная, *U. urens*—жгучая) 179, 180
Usnea barbata—Борода лешего, ведмьины косы (лишайники) 355
Ustilago maydis—Головня кукурузная 97

У

Vaccaria segetalis—Тысячеголовник 392
Vaccinium myrtillus—Черника 59, 389, 426, табл. IV, рис. 1

- V. uliginosum*—Голубика, говнобобель 59, 88, 389
V. vitis idaea—Брусника 49, 59, табл. IV, рис. 4
Valeriana—Валериана (*V. colchica*—колхидская, *V. dubia*—сомнительная, *V. exaltata*, *V. palustris*—болотная, *V. nitida*—лоснящаяся, *V. officinalis*—лекарственная, *V. rossica*—русская, *V. stolonifera*—ползучая, *V. turchanica*—туруханская, *V. wolgensis*—волжская) 52, 53
Vanilla planifolia—Ваниль 270
Veratrum—Чемерица (*V. album*—белая, *V. daburicum*—даурская, *V. Lobellianum*—Лобеля, *V. viride*—зелёная) 271, 318, 424, 425
Verbascum—Коровяк (*V. phlomoides*—шерстистый, *V. speciosum*—красный, *V. thapsus*—медвежье ухо, *V. thapsiforme*—скипетровидный) 178
Vetiveria zizanioides—Ретиверия 25
Viburnum opulus, *V. prunifolium*—Калина 143
Vinca major—Барвинок большой, *V. minor*—Б. малый 33, 34
Vincetoxicum officinale—Ластовень 194
Viola odorata—Фиалка душистая 403, 404, 445, табл. XX, рис. 2
V. tricolor—Ф. трехцветная 404, табл. XX, рис. 1 и 3
Viscum album—Омела белая 265
Vitex agnus castus, *V. negundo*, *V. peduncularis*—Авраамово дерево 5
Vitis—Виноград 60, табл. III, рис. 1—3

X

Xanthium—Ксантium, дурнишник (*X. spinosum*—колючий, *X. strumarium*—вожучий) 186

Z

Zea mays—Кукуруза 187, табл. XIII, рис. 3
Zingiber officinale—Имбирь 134
Ziziphora clinopodioides, *Z. taurica*, *Z. tenuior*—Зизифора 130
Zizyphus vulgaris—Унаби 397
Zygadenus sibiricus—Зигаденус 130

(19) **RU** (11) **(11) 2008913 C1**

(51) **A61K 35/78**

**Russian Federation Committee
for Patents and Trademarks**

SPECIFICATION OF INVENTION

to the Patent

(21) 5067631/14

(22) September 28, 1992

(46) March 15, 1994. Bul. № 5

(75) Makeev B.A.

(76) Makeev Boris Aleksandrovich; Leontiev Aleksandr Ivanovich

**(54) A BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE HAVING ANTIMICROBIAL,
FAGOCYTIC, MYOTIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY**

(57) Use: in medicine and medical industry for producing a substance having properties of adaptogen. The essence of invention consists in direct extracting the respective vegetative raw materials by oil and distilled water. Then the following steps take place: uniting extracts, adding liquid turpentine, ammonia, an emulsifier, and an ether concentrate. A target product has the marked adaptogenic effect which is demonstrated in reduction of the fatigability and improvement of the capability to work when said product is applied to a body surface. 2 independent Claims and 1 dependent Claim, 1 Figure, 4 Tables.

C l a i m s

1. A BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE HAVING ANTIMICROBIAL, FAGOCYTIC, MYOTIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY, said substance containing a water extract of vegetative raw materials, an ether concentrate, aqueous ammonia, and an emulsifier, wherein 1 kg of a target product comprises, in grams:

Ether concentrate	Not less then 3.0
Glycerol	No more then 3.0
Emulsifier	No more then 3.0
Aqueous ammonia	Not less then 5.0
Aqueous extract	Up to 1 kg of the target product.

2. An ether concentrate characterized in that it is a mixture of an equivalent amount of essential oils.

3. A concentrate according to Claim 2, including as the essential oils mint oil and/or fennel oil, caraway oil, anise oil, drillseed oil, coriander oil, bergamot oil, lemon oil, orange oil, eucalyptus oil, sandalwood oil, ylang-ylang oil, clary sage oil, fir oil, attar of roses, lavender oil, clove oil.



Комитет Российской Федерации
по патентам и товарным знакам

(19) RU (11) 2008913 C1

(51) 5 A 61 K 35/78

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

1

(21) 5067631/14

(22) 28.09.92

(46) 15.03.94 Бюл. № 5

(75) Макеев БА

(73) Макеев Борис Александрович, Леонтьев Александр Иванович

(54) **БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЕ ВЕЩЕСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ, ФАГОЦИТАРНОЙ, МИТОТИЧЕСКОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

(57) Использование : в медицине и медицинской промышленности для получения вещества, облада-

2

ющего свойствами адаптогена. Сущность изобретения состоит в том, что проводят прямую экстракцию соответствующего растительного сырья маслом и дистиллированной водой. Экстракты объединяют, добавляют живичный скипидар, аммиак водный, глицерин, эмульгатор, эфирный концентрат. Целевой продукт обладает выраженным адаптогенным эффектом, что проявляется в снижении утомляемости, увеличении работоспособности при его нанесении на поверхность тела. 2 с. 1 злф-лы 1 ил. 4 табл.

(19) RU (11) 2008913 C1

Изобретение относится к медицине и медицинской промышленности и может быть использовано для получения Аурона – нового биологически активного вещества (БАВ), которое в перспективе является препаратом противовоспалительного действия, обусловленного его противомикробной, фагоцитарной, митотической и антиоксидантной активностью.

Известен широкий круг БАВ, в том числе и препаратов, обладающих противовоспалительной активностью.

К таким веществам относятся препараты, полученные химическим синтезом: трихопол, фурудонин, тинидазол, аспирин и т.д.

Наиболее эффективными в плане противовоспалительного действия являются синтетические антиоксиданты – производные ионолового ряда – феназан K^+ и Z^+ .

Однако общим недостатком химических препаратов является их высокая токсичность.

Менее токсичным является ДМСО – диметилсульфоксид, препарат, обладающий антиоксидантными свойствами, применяемый в качестве противовоспалительного средства. Особенно эффективен ДМСО в комплексе с гормональными (стероидного типа) препаратами. Недостатком данного аналога является низкая эффективность в отсутствии комплекса с гормоном. Вместе с тем включение в схему лечения гормонов часто имеет побочные явления: увеличение жесткости клеточных мембран, нарушение их проводимости, ломкость и т.д.

Этих недостатков лишены экстракты из растительного сырья. Однако, как правило, препараты естественного происхождения имеют низкую эффективность в сравнении с первой группой веществ.

Расширение спектра лекарственных средств противовоспалительного действия является постоянно актуальной задачей фармацевтической промышленности, прикладных исследований в медицине.

Таким образом техническим результатом предлагаемого изобретения является расширение спектра БАВ, обладающих противовоспалительным действием.

В основу решения положены исследования Караванова В. по прямой экстракции растительного сырья в воду.

Технический результат достигается следующим образом. Аурон получают прямой экстракцией растительного сырья в воду дистиллированную в течение 5 ч при температуре не ниже $30^{\circ}C$. Экстракт фильтруют. К полученному фильтрату добавляют глице-

рин, нашатырный спирт, олеиновую кислоту и эфирный концентрат.

В качестве растительного сырья, взятого на 1 л воды, используют смесь, содержащую, г

Трава полыни горькой	10
Трава мяты перечной	10
Почки сосны обыкновенной	12
Корень солодки	1
Трава зверобоя продырявленного	5
Трава чабреца	5
Цветы тысячелистника	5
Цветы календулы	5
Трава чистотела	5

В качестве эфирного концентрата используют смесь масел: масло мяты перечной и/или масла пихтового, фенхелевого, тминного, анисового, укропного, кориандрового, бергамотного, лимонного, апельсинового, эвкалиптового, санталового, иланг-илангового, мускатно-шалфейного, розового, лавандового и гвоздичного.

В эфирном концентрате масла находятся в равных пропорциях, а количество концентрата в Ауране составляет 5 г на 1 кг Аурана.

В табл.1 приводится пример состава Аурана.

Исследования биологической активности аурана.

Исследования противомикробной активности.

Исследования проводили на музейных культурах микроорганизмов: *St. aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, кишечная палочка 0-138. За трое суток до начала работы культуры пересеивались на ЖСА, через 48 ч колонии откладывались на МПА и инкубировались в течение 24 ч при $37^{\circ}C$ в термостате.

Для проведения исследования противомикробной активности препарата микроорганизмы пересеивались на чашки Петри с питательной средой и инкубировались в течение ночи до появления на чашках большого количества микробных колоний.

Исследуемый препарат в количестве 0,02 наносится на чашку Петри поверх микробных колоний откалиброванной бактериологической петлей и чашки инкубировались в течение 2 сут. Результат учитывался по появившимся пятнам лизированных микроорганизмов. В качестве контроля использовались intactные чашки с музейной культурой микроорганизмов без воздействия препарата. Было проведено 5

серий исследований, в результате которых установлено, что нативный препарат Аурон обладает выраженной антибактериальной активностью в отношении всех исследованных микроорганизмов. Результаты представлены в табл.2.

Исследование влияния растительного экстракта Аурон на фагоцитарную активность элементов крови.

Исследование проводилось на нейтрофилах крови (тест НСТ). Суть теста состоит в том, что способные к фагоцитарной активности клетки крови захватывают частички красителя — нитротетразолиевого синего. Количество нейтрофилов, захвативших краситель, является показателем активности крови.

В качестве субстрата для получения нейтрофилов использовалась донорская кровь. Кровь в стерильных условиях забиралась из локтевой вены, гепаринизировалась по общепринятой методике и затем в течение часа с момента ее получения проводился тест НСТ.

В качестве стандартов сравнения активности исследуемого препарата использовались известные индукторы фагоцитоза — лизоцим и продигозан.

В иммунологический планшет помещали по 0,05 мл гепаринизированной крови. В контрольную лунку (для проверки спонтанной активности) добавляли 0,225 мл раствора Хэнкса, в лунки для сравнения со стандартными препаратами по 0,025 мл раствора продигозана и лизоцима, в остальные лунки добавлялся исследуемый препарат в концентрации 50%, 10%, 1% на солевом растворе Хэнкса. Также в одну из лунок с кровью добавляли 0,025 мл среды 199 в качестве контроля растворителя.

Затем во все исследуемые лунки добавляли по 0,025 мл 0,02%-ного раствора НСТ. Содержимое лунок в планшете пипетировали при помощи микропитеток и инкубировали при 37°C в течение 15 мин. После этого повторно пипетировали и инкубировали в термостате в течение 30 мин.

Затем готовили мазки крови на обезжиренных предметных стеклах, высушивали мазки на воздухе, фиксировали в течение 10 мин в смеси метилового и этилового спирта, окрашивали кармином в течение 1 ч.

В полученных и окрашенных мазках подсчитывали отношение числа нейтрофилов, которые захватили краситель к общему числу нейтрофилов в мазке (из 100 клеток). Полученные результаты статистически обрабатывались и сводились в табл.3.

Символ п в названии группы означает незахват красителя.

Исследуемый препарат Аурон во всех концентрациях (50%, 10% и 1%) усилил фагоцитарную, статистически достоверную активность нейтрофилов в 2,73 – 3,05 раза по сравнению со спонтанной, в зависимости от концентрации. Аурон является активным стимулятором процесса фагоцитоза, он может применяться при различных состояниях и заболеваниях, протекающих со снижением клеточного иммунитета.

Изучение антиоксидантной активности препарата Аурон.

Исследование антиоксидантной активности Аурона проводилось на нейтрофилах крови. Индуцировался зимозаном процесс кислородного взрыва и исследовался процесс его ингибирования исследуемым препаратом.

Препараты, ингибирующие индуцированный кислородный взрыв, по литературным данным обладают антиоксидантной и противовоспалительной активностью.

Исследование проводилось на цельной крови донора. Гепаринизированная кровь, полученная из локтевой вены, в количестве 0,1 мл добавлялась в анализатор хемолюминометра, затем добавлялось по 0,1 мл растворов люминола и зимозана (для индуцирования кислородного взрыва в нейтрофилах крови).

В клетках крови нарастал кислородный взрыв, что регистрировалось по увеличению хемолюминисценции. На пике кислородного взрыва в анализатор вводился препарат Аурон в конечной концентрации 0,5% и измерялось изменение люминисценции. Контролем служила кровь, к которой не добавлялся препарат.

Было установлено, что добавление в количестве 0,015 мл препарата к крови практически полностью ингибировало кислородный взрыв в клетках, что можно расценить как ингибирование АФК — активных форм кислорода, участвующих в механизме перекисного окисления липидов и развитии окислительной реакции.

На чертеже отражен механизм ингибирования индуцированной хемолюминисценции.

С: IOB2.con — спонтанная люминисценция крови

С: IOB2.pre — ингибирование индуцированной люминисценции.

В результате 2 серий изменений было установлено, что аурон достоверно ингибирует в клетках крови активные формы кислорода, участвующие в воспалительных реакциях в организме.

Фоновая люминисценция сыворотки крови и препарата ничтожно мала и не вли-

яет на полученный результат. Так как растительный экстракт Аурон достоверно ингибирует индуцированный зимозаном кислородный взрыв, его можно отнести к группе препаратов, обладающих антиоксидантной и противовоспалительной активностью, и он может быть использован в качестве профилактического средства при воздействии повышенных температур.

Изучение митотической активности Аурона.

Изучение митотической активности Аурона проводилось методом биоиндикации на перевариваемой клеточной линии РН.

Клеточная взвесь (концентрация клеток 80 тыс. в 1 мл культуральной среды) рассаживалась по пенициллиновым флаконам с кусочками покровных стекол на дне. В качестве культуральной среды использовалась среда 199 с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота. После формирования клеточного монослоя культуральная среда сливалась и заменялась на раствор препаратов в среде 199. Для исследования митотической активности были использованы нетоксичные концентрации препарата Аурон – 0,5%-ный раствор. Контролем служила клеточная культура без добавления препаратов. Флаконы инкубировались в термостате при 37°C в течение 48 ч, каждые 24 ч готовились морфологические препараты по общепринятой методике и проводился подсчет числа митотических клеток в монослое методом случайных полей по морфологической сетке Стефанова С.Б.

Митотический индекс выражался в отношении числа митотических клеток к числу монослоя (на 1000 клеток).

Было проведено 5 серий исследований. Митотический индекс контрольной клеточной линии РН составляет 20,5 митотических клеток на 1000 исследуемых.

Использование Аурона (во всех 5 сериях) сопровождалось достоверным (в 2,34 раза) увеличением митотической активности клеток по сравнению с контрольной культурой. Увеличивая митотическую активность клеток, Аурон улучшает репаративные процессы кожи.

Проведенные исследования позволили установить, что Аурон оказывает противомикробное действие, являясь активным стимулятором процесса фагоцитоза, и может быть использован при различных состояниях, связанных со снижением клеточного иммунитета.

Растительный экстракт Аурон может быть отнесен к группе веществ, обладающих антиоксидантной и противовоспалительной активностью, за счет митотической

активности клеток он улучшает репаративные процессы кожи.

Исследование безопасности кожного применения Аурона.

5 Изучение острой токсичности Аурона.

Изучение острой токсичности Аурона проводилось методом биоиндикации на клеточной линии Л-41-лейкоциты человека.

10 Клеточная суспензия рассаживалась в пенициллиновые флаконы с покровным стеклом (концентрация клеток – 80 тыс./мл, культуральная среда – 199 с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота). Флаконы инкубировались в термостате при 37°C в течение 24 ч до формирования на стеклах клеточного монослоя. Затем культуральная среда сливалась и заменялась на поддерживающую среду 199 без сыворотки.

20 Разведение Аурона готовили в среде 199 в различных концентрациях от 0,1% до 10% и нативного.

25 Различные концентрации препарата добавлялись в культуральную среду и инкубировались в течение 72 ч в термостате, каждые 24 ч готовились морфологические препараты по общепринятой методике: фиксация жидкостью Карнуа, окраска гематоксилин-эозином.

30 Контролем служила клеточная культура, в которую не добавлялся Аурон, и культура, в которую добавлялось подчелючное масло.

35 Исследования показали, что Аурон не токсичен для клеточного монослоя в концентрациях от 0,1 до 0,5%. Клетки хорошо распластаны на стенке, цитоплазма мелкозернистая, ядра правильной формы, округлой с 1 – 3 ядрышками, имеется много митотических клеток. В концентрациях 1 – 3% проявляется слабая цитотоксичность: происходит разрежение монослоя, цитоплазма клеток вакуолизирована, встречаются отдельные пикнотизированные клетки.

45 В концентрации 3 – 10% токсичность препарата для клеточного слоя значительно возрастает, появляется 50 – 70% от общего числа погибших клеток.

Исследование хронической токсичности Аурона методом биоиндикации на клеточной линии Л-41-лейкоциты человека.

50 Для проведения исследования брали культуральный сосуд объемом 175 мл со сформированным клеточным монослоем. Монослой снимали со стекла раствором Версена, клетки суспендировали в культуральной среде 199 таким образом, чтобы концентрация в 1 мл среды составляла 100 тыс. клеток.

55 Полученная суспензия использовалась для проведения опыта в следующих вариантах:

в) В 2 чашки Карреля объемом 25 мл помещали 5 мл клеточной взвеси; затем в одну добавляли 5 мл среды 199 с 10% сыворотки крупного рогатого скота, а во вторую 5 мл среды 199, содержащей 0,16% исследуемого препарата и сыворотку.

Таким образом препарат разводился до концентрации 0,08%. Обе чашки Карреля инкубировали в термостате при 37°C без смены среды до полной дегенерации клеточного монослоя.

Время инкубации составило 16 сут как для контрольного, так и испытуемого монослоя.

в) В 2 чашки Карреля объемом 25 мл помещали 5 мл клеточной взвеси, затем в одну добавляли 5 мл среды 199, а в другую – 5 мл 0,16%-ного раствора препарата в среде 199. В обе чашки добавлена сыворотка крупного рогатого скота в количестве 5%. Замену культуральной среды в обеих чашках проводили каждые 2 дн. Длительность выживания монослоя составляла 21 день как в контрольной чашке, так и в опытной. Разница в длительности выживания клеточного монослоя между первыми и вторым вариантом получена за счет введения во втором варианте питательной среды каждые два дня.

Проводилось ежедневное прижизненное наблюдение за состоянием монослоя, отклонений от морфологий монослоя не обнаружено.

в) 1 мл взвеси помещали в культуральный сосуд емкостью 175 мл, добавляли 10 мл среды 199, содержащей 0,16% исследуемого препарата и 10% сыворотки крупного рогатого скота. Сосуд инкубировали в термостате при 37°C в течение 72 ч до формирования клеточного монослоя. В дальнейшем каждые двое суток проводили отсадку ткани в пенициллиновые флаконы с покровными стеклами с целью приготвления морфологических препаратов (фиксация этиловым спиртом в течение 10 мин, окраска гематоксилин-эозином). Длительность исследования составила 10 пассажей (в каждом пассаже 16 флаконов).

г) Клеточная взвесь инкубировалась в течение 72 ч до формирования монослоя. Затем клетки снимались со стекла раствором Версена и рассаживались в пенициллиновые флаконы: В 16 флаконах в качестве культуральной среды использовали среду 199 с 10% сыворотки (контрольная группа) и в 16 флаконах 0,08%-ный раствор исследуемого препарата в среде 199 с сывороткой. Флаконы инкубировали в термостате, морфологические препараты готовились через каждые 24 ч.

Всего провели 5 серий исследований. Ни в одном варианте исследования не обнаружено отклонений в морфологии: отсутствуют патологические митозы, количество многоядерных (3,3) и гигантско-ядерных клеток (5,5 на 100) не превышает нормы для данной клеточной линии, отсутствует неспецифическая дегенерация.

Аурон в используемой концентрации не нарушает жизненных функций клеточного монослоя при длительном введении в питательную среду ни в одном из вариантов исследования.

В результате проведенных исследований установлено, что препарат Аурон нетоксичен и не оказывает цитологического действия на клеточный монослой в концентрации 0,5% и ниже, так как исследование фармакологических препаратов на клеточном монослое приравнивается к модели внутривенного введения, то при пересчете на 1 кг биомассы человека доза Аурона составит около 17,2 л. Следовательно Аурон можно отнести к нетоксичным веществам.

Исследование местно-раздражающих свойств Аурона.

Экспериментальные исследования проведены на 40 белых беспородных крысах (самцы, масса тела 180–200 г) и 10 кроликах породы шиншилла (самки, масса тела 2,5–3,0 кг). Исследуемый бальзам вводили животным различными способами в нативном виде.

Исследование местно-раздражающего действия бальзама

Аурон на крысах путем накожных аппликаций.

Экспериментальные исследования были проведены на 20 беспородных крысах (самцы, масса тела 180–200 г), которые были разделены на 2 группы по 10 животных в каждой: 1-я группа – контроль (основа бальзама), 2-я группа – бальзам Аурон.

Бальзам и его основу наносили на депилированную кожу спины крыс размером 2,0 x 2,0 см по 1 мл ежедневно в течение 30 сут. По окончании эксперимента проведена эвтаназия животных и визуально была исследована кожа и подкожная клетчатка в месте нанесения бальзама и основы. При установлении выраженной реакции кожи и подкожной клетчатки в виде гиперемии или усиления сосудистого рисунка делался вывод о наличии раздражающего действия бальзама.

В результате проведенных исследований было установлено, что в условиях длительной аппликаций бальзамом кожи крыс не зарегистрировано гиперемии или усиления сосудистого рисунка на коже и подкож-

ной клетчатке, что свидетельствует об отсутствии раздражающего действия у исследуемого бальзама.

Изучение местно-раздражающих свойств бальзама Аурон при повторном подкожном введении крысам.

Исследования проведены на 20 белых беспородных крысах (самцы, масса тела 180 – 200 г), которые были разделены на 2 группы по 10 животных в каждой: 1-я группа – контроль (основа – бальзама), 2-я группа – бальзам Аурон.

Исследуемый бальзам и его основу вводили крысам 3-кратно подкожно в объеме 0,5 мл на животное. По окончании экспериментальных исследований была проведена эвтаназия животных. Оценка раздражающих свойств бальзама и основы проведена аналогично описанной ранее.

В результате проведенных исследований бальзам и его основа не вызывали видимых изменений кожи и подкожной клетчатки в месте введения препарата.

Оценка местно-раздражающих свойств бальзама Аурон при субконъюнктивальном введении кроликам.

Исследования выполнены на 10 кроликах породы шиншилла (самки, масса тела 2,5 – 3,0 кг), которые были распределены на 2 группы по 5 животных в каждой: 1-я группа – контроль (основа бальзама, 2-я группа – бальзам Аурон.

Исследуемый бальзам и его основу вводили кроликам 3-кратно в количестве 0,02 мл на каждое животное в левый глаз, правый глаз при этом был контрольным.

Проведенные исследования свидетельствуют об отсутствии раздражающего действия исследуемого бальзама и его основы на слизистую кроликов и его основы на слизистую кроликов в условиях субконъюнктивального введения.

Таким образом изучение токсичности Аурона и его местнораздражающего действия позволило установить, что:

в условиях длительной аппликации бальзамом Аурон на депилированную кожу крыс отсутствуют видимые изменения кожи и подкожной клетчатки экспериментальных животных;

при 3-кратном введении крысам бальзама Аурон не зарегистрировано раздражающего действия препарата в месте инъекции;

бальзам Аурон не обладает раздражающим эффектом на слизистую оболочку глаз кроликов при повторном субконъюнктивальном введении.

Проведенные исследования позволяет оценить Аурон как перспективное средство для противовоспалительной терапии, не имеющее побочного действия.

Препарат проходит клинические испытания.

(56) Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 1978.

Т а б л и ц а 1

Сырье	Количество, г
Эфирный концентрат из масла мяты перечной и масла пихтового (1:1 по массе)	5,0
Глицерин	3,0
Олеиновая кислота	7,0
Аммиак водный технический	5,0
Водный экстракт из растительного сырья	До 1 кг

Таблица 2

Номер опыта	Кол. чашек	Ecoll	Pvulg.	Pmirab	Pcer.	0-138	St h	Sch.fl.
1	5	x	x	x	x	x	x	x
2	5	x	x	x	x	x	x	x
3	5	x	x	x	x	x	x	x
4	5	x	x	x	x	x	x	x
5	5	x	x	x	x	x	x	x

Примечание. Знаком "x" обозначено наличие антибактериального действия.

Таблица 3

Переменная	Z contr.	Z lizo	Z 199
Среднее	10,75	58,5	14,5
Вариация	0,916667	21,6667	3
Стандартное откл.	0,957427	4,65475	1,73205
Стандартная ошибка	0,478714	2,32737	0,866025
Минимум	10	53	12
Максимум	22	64	16
Переменная	Z prodig	Z prepс	Z pllzo
Среднее	63,5	8,75	22,75
Вариация	1	1,58333	8,25
Стандартное откл.	1	1,25831	2,87228
Стандартная ошибка	0,5	0,629153	1,43614
Минимум	62	7	19
Максимум	64	10	25
	Z prep 100	n contr.	n lizo
Среднее	23	89,25	41,5
Вариация	6	0,916667	21,6667
Стандартное откл.	2,44949	0,957427	4,65475
Стандартная ошибка	1,22474	0,478714	2,32737
Минимум	20	88	36
Максимум	25	90	47
Переменная	n 199	n prodig	n prep
Среднее	85,5	36,5	91,25
Вариация	3	1	1,58333

Продолжение табл. 3

Стандартное откл.	1,73205	1	1,25831
Стандартная ошибка	0,866025	0,5	0,629153
Минимум	84	36	90
Максимум	88	38	93
Переменная	n prep 50	n prep 100	
Среднее	77,25	77	
Вариация	8,25	6	
Стандартное откл.	2,87228	2,44949	
Стандартная ошибка	1,43614	1,22474	
Минимум	75	75	
Максимум	81	80	

Примечание. Z contr – захват красителя в контроле;
 Zlto – захват красителя при стимуляции лизоцимом;
 Z199 – захват красителя в присутствии среды 199;
 Zprodig – захват красителя при стимуляции продигозаном;
 Zprep – захват красителя в присутствии нативного препарата;
 Zprep50 – захват красителя в присутствии 0,16%-ного раствора препарата;
 Zprep100 – захват красителя в присутствии 0,08% раствора препарата.

Таблица 4

Митотическая активность клеточного монослоя (на 1000 клеток)

Препарат	Номер серии					Среднее
	1	2	3	4	5	
Контрольная культура	22,0	20,0	21,0	20,0	21,0	20,8
Препарат Аурон	49,0	50,0	48,0	47,0	49,0	48,6

Формула изобретения

1. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЕ ВЕЩЕСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ, ФАГОЦИТАРНОЙ, МИТОТИЧЕСКОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, содержащее водный экстракт растительного сырья, эфирный концентрат, глицерин, водный аммиак, эмульгатор, причем 1 кг целевого продукта 5 содержит, г:

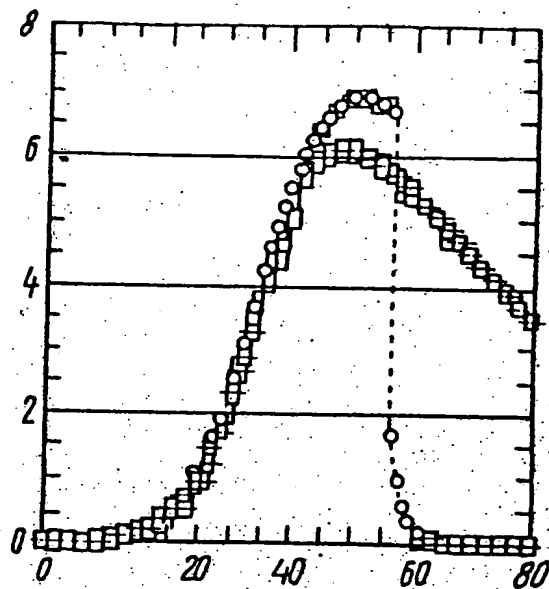
Эфирный концентрат	Не менее 3,0
Глицерин	Не более 3,0
Эмульгатор	Не более 3,0

Водный аммиак
 Водный экстракт

Не менее 5,0
 До 1 кг целевого продукта.

2. Эфирный концентрат, отличающийся тем, что представляет собой смесь эквивалентного количества эфирных масел.

3. Концентрат по п.2, включающий в качестве эфирных масел мятное и/или фенхелевое, тминное, анисовое, укропное, кориандровое, бергамотное, лимонное, апельсиновое, эвкалиптовое, санталовое, кланг-иланговое, мускатно-шалфейное, пихтовое, розовое, лавандовое, гвоздичное.



Редактор Р.Мельникова

Составитель Б.Макеев
Техред М.Моргентал

Корректор М.Максимишинец

Заказ 20

Тираж
НПО "Поиск" Роспатента
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Подписное

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101

[Translator's Note: Page with Latin/Russian equivalents does not need translating except for the first word, which means 'Family']

Chapter IV

Bactericidal Properties of Phytoncides [Plant Compounds with Antibacterial, Antifungal, and Antiprotozoal Properties]

Experimental technique - Universal presence of phytoncides among higher plants - Phytoncides of lower plants - History of the topic 'antibiotics' - Role of Russian scholars - First studies of bactericidal properties of phytoncides - Experiments with microflora of the oral cavity - Effect of phytoncides on BCG tuberculosis bacilli - Phytoncides and microflora of infected wounds (studies of Toroptseva and Filatova)

A pioneer in the area of studying the bactericidal properties of volatile substances secreted by plants is A. Filatova, who, as was reported to me, together with A. Tebyakina, in 1931-33 studied the phytoncides of *E. coli*, *B. proteus*, and *Staphylococcus alba* [albus?], and demonstrated their powerful bactericidal action. Filatova later greatly expanded her studies, which proved to be the departure point for much new research in this field by microbiologists. She and Toroptseva took the initiative in boldly introducing phytoncides into medical practice to treat infected wounds - an initiative which gave excellent results in many military medical institutions of the Soviet Union during the Great Patriotic War [World War II].

We will note the more important results obtained by various researchers which confirm the bactericidal properties of phytoncides. But botanists, zoologists, physicians and microbiologists interested in phytoncides as a microbiological issue will not be satisfied with just what is presented here, and should consult specialized studies published in the past few years.

The diversity of experimental technique has consisted of the following approaches (Fig. 18).

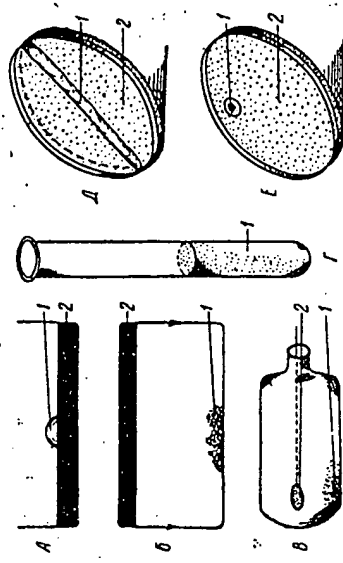


Fig. 18. Bacterial Experiments

A - surface of nutrient medium with bacterial culture (2): 1 - drop of bactericidal juice; B. 1 - plant slurry; 2 - surface of nutrient medium with bacteria. C. 1 - plant slurry; 2 - platinum loop with tested bacteria; D. 1 - suspension of bacteria in bactericidal juice; E. 1 - phytoncidal 'trail' on agar; 2 - bacterial culture on agar; F. 1 - hollow in agar into which plant slurry is placed; 2 - bacterial culture on agar

1. The bacteria are inoculated as a streak or lawn onto a solid nutrient medium. 1-15 drops of bactericidal juice of the relevant plant are dropped onto the surface of the medium. The dynamics of growth of the bacterial culture are studied under temperature-controlled conditions (Fig. 18A).

2. A just-prepared slurry of a plant that is to be studied for its bactericidal action is placed onto the bottom of a Petri dish. A bacterial culture on a solid surface is treated with the volatile plant compounds by inverting the dish with the bacteria over the dish with the plant slurry. Time of exposure to the action can be varied, depending on the purposes of the experiment, the bacterial resistance, etc. (Fig 18B).

3. Material for reinoculation into experimental flasks and test tubes is kept for 5-8 minutes on a platinum loop above the vapors of phytoncides coming out of a just-prepared slurry of onion, garlic, or other plant (Fig 18C).

4. A suspension of some bacterial culture in the juice of the plant to be studied is prepared. After specific time intervals, the bacteria are inoculated (Fig 18D).

5. One or two drops of bactericidal juice are added to an agar surface inoculated as a lawn. The dish is placed at a slant. Because drops flow down along the diameter, a 'plant trail' is formed. Macroscopic and microscopic studies are done of the 'trail' and of the rest of the agar surface after various times of retention at in an incubator (Fig 18E).

6. On an agar medium inoculated as a lawn, a hollow is made in any part of the Petri dish, into which is placed a small quantity of plant slurry. The dish is covered and observations made of the growth of the bacterial culture in different parts of the dish (Fig 18F).

7. The hanging drop method is used to study the action of volatile compounds on mobile forms of bacteria.

8. E. Danini, on the basis of work at our laboratory, put together the following highly successful instructions.

When looking for new phytoncides the following methods can be used.

1. "Shoe" technique. In order to detect antibacterial properties of a plant being tested the study must be done using several species of bacteria.

Plates with nutrient agar are inoculated with an 18-hour broth culture of a microbe. For a quantitative assay of the action of the plant material, the dishes are inoculated with a bacterial emulsion containing about 500 microbes per 0.1 ml. A bacterial suspension is prepared by successive dilutions of the broth culture in physiological saline solution. This is done as follows. Use a 1 ml pipette (rod-type) to take 0.5 ml of broth culture and transfer it to a test tube containing 4.5 ml saline solution (first dilution). Carefully transfer this bacterial suspension to the next test tube with 4.5 ml saline solution (second dilution) by inhaling and exhaling into this pipette several times. Then take 0.5 ml broth culture from this test tube and transfer it to the next test tube with 4.5 ml saline solution (second dilution) and so forth until the required concentration is obtained. Each dilution is done with a different pipette. To assess the degree of dilution one must know the approximate concentration of microbes in 1 ml of the 18-hour broth

culture. This is done via a preliminary study of the growth of the strain being tested in broth. Thus, for instance, from our own laboratory data, 0.1 ml of the 5th dilution contains an average of 500-600 cells of *Staphylococcus aureus*. To obtain the same quantity of *B. megatherium* requires 4 dilutions. Thus in each individual case a different level of dilution is required, depending on the rate of growth of the particular microbe species.

A culture can also be grown on an agar slant. In this case wash the bacterial film from the surface of the agar slant with sterile saline solution. Reduce the starting bacterial emulsion to a standard (for instance 1 million microbes in 1 ml). Then reduce the suspension of known concentration to the desired concentration by successive dilutions in saline solution. Inoculate plates containing nutrient agar with 0.1 ml of diluted 18-hour culture. At the center of the inoculated medium use an auger to drill out a circle of agar (of 10 mm diameter, for instance) and remove it. Place into this depression 0.5 g of freshly-prepared plant slurry.

First crush and grind the plant material to be tested in a porcelain mortar to 'slurry' state. Always remember that some plants when processed may quickly lose to the surroundings a significant part of their volatile bactericidal compounds, and therefore it is recommended that the plant slurry be prepared as quickly as possible.

Carefully invert the plates, cover them with paper, and place them into an incubator for 24 hours at a temperature optimal for the growth of the microbe being tested. Use as a control plates inoculated with the same quantity of microbes but without the action of the plant agent.

After 24 hours note the size of the sterile zone in millimeters, count or calculate the number of colonies that grew, and compare that with the control.

2. Running drop method. Inoculate the nutrient agar with an 18-hour culture of the microbe to be tested. The inoculation technique is described in the 'shoe' method.

Place one or two drops of the plant filtrate or juice to be tested onto the culture at the edge of the plate, using a pipette. (The preparation of 'tissue' juice is found in the description of the contact method of research).

Carefully slant the dish, and the drops will slowly run along the surface of the agar plate. Invert the dishes and place them for 23 hours into an incubator at a temperature optimal for the growth of the microbe being tested. Assess how bacteriocidal the juice is from the size of the sterile zone to both sides of the running drop (the trail).

3. Technique of quantitative assay of phytoncidal activity. To study the action of volatile phytoncides on bacteria, use the following method, which can provide a quantitative assay of phytoncidal activity.

Inoculate dishes containing nutrient agar with 18-hour broth culture.

After inoculating the dishes, excluding the controls, treat them with volatile fractions of phytoncides. Expose them for various times under incubator conditions. It is best to start with a long treatment for 12-18 hours. If this exposure shows a bacteriocidal effect, then treat the bacterial cultures for shorter times (for example 10 minutes, 30 minutes, 1 hour, 2 hours, etc.)

Spread one gram of plant slurry in a thin layer onto the surfaces of the lids of dishes with the culture. To avoid the effect of volatile phytoncides on the control cultures and on cultures treated with the phytoncides of other plants, or on cultures of bacteria when the experiment is carried out in an incubator, each dish should be carefully wrapped in thick paper. Place the wrapped dishes into the incubator at the optimal temperature for the growth of the test object. After the specific amount of time has elapsed, remove the plant matter together with the lid, and replace the lid with a new one. After 24 hours make the first observation of the dishes and record in a log the number of colonies which grew, paying attention to their nature. Record observations of the dishes every 5 days. If the plant being studied has bacteriocidal properties relative to the strain being tested, and the dishes remain sterile during the observation period, as a control do a successive inoculation from the sterile surface of the nutrient substrate.

4. Contact method. To determine the phytoncidal activity of tissue juice or an aqueous extract of plants you may use the contact method.

Obtain tissue juice as follows. Grate the test plant first on a fruit grater (if possible) and then grind in a porcelain mortar to a slurry. Wring out the slurry through two layers of cheesecloth. Pass the juice obtained by this through a Seitz filter under vacuum. This

produces juices from juicy plants. For plants which do not give a satisfactory result by this method prepare aqueous extracts.

Aqueous extracts may be obtained in various ways. We describe one example. Pour distilled water onto the plant slurry in a ratio of 1:1 and leave it for 24 hours at room temperature. The next day wring out the slurry through cheesecloth and pass the resulting liquid through a Seitz filter under vacuum. In some cases a good effect is achieved by autoclaving. In the latter case pour distilled water onto the plant material and autoclave for 30 minutes at 0.5 atmospheres. After cooling, wring it through cheesecloth and filter with a Seitz filter.

We advise that you start by testing the action of natural juices or concentrated aqueous extracts without first diluting them.

Observing the rules of sterility, pour 5 ml of the juice or aqueous extract to be tested into a sterile test tube, and add one drop of bacterial emulsion containing 2 billion microbes per ml (by an optical standard).

As a test object use a strain of microbes sensitive to the juices being tested. A sensitive strain may be selected by first studying the juice with many species of bacteria using the running drop method.

Use as the control a test tube with 5 ml saline solution, inoculated with the same amount of microbial suspension. During the experiment keep the test tubes in an incubator at a temperature optimal for the growth of the microorganisms being tested. At specific time intervals (immediately, after 1 hour, 2, 3, 4, 5, and 24 hours) inoculate 0.05 ml from the test tubes onto plates with nutrient agar. After 24 hours of incubation, calculate the result (count or calculate the colonies growing on the dishes and study the morphology of these colonies).

After antibacterial action of the tissue juice or aqueous extract has been detected, its activity can be determined by diluting the liquid being tested using the so-called dilution method.

Dilute the juice or aqueous extract in sterile test tubes containing a specific volume. You can dilute to 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, etc.

Inoculate the test tubes containing the various dilutions with a standard drop of 18-hour culture of the microbe to be tested. Dilute the liquid to be studied in broth. Use as a control a test tube with native juice or an aqueous extract of the starting concentration and a test tube with broth. The volumes of liquid in the investigational and control tubes should be identical.

Place the test tubes into an incubator for 5 hours at a temperature optimal for the growth of the microbes and at the end of the incubation period inoculate 0.05 ml portions onto dishes with agar. Place the dishes with the cultures into an incubator. The next day evaluate the results. The greatest dilution of the juice at which there is no microbial growth indicates the degree of activity of the tested tissue juices or aqueous extracts.

All these methods of studying the antibacterial properties of higher plants are satisfactory for detecting new phytoncide carriers.

The group of higher plants whose bactericidal properties have been studied to some degree is rather large. We will mention only studies of a direct microbiological nature. At present bactericidal properties have been detected in various widely different species of plants. Here is a list of these plants with the authors' names: 1) aloe (various authors), 2) pineapple (Korabel'nikov and Gimmel'farb), 3) birch (various authors), 4) meadow rue [Thalictrum] (Satsyperova), 5) anemones and other Ranunculaceae (Satsyperova), 6) mustard [Synapis] (Filatova), 7) oak (Danini and Gramenitskaya), 8) potato (Vagner) [Wagner?], 9) water chestnut (S. Chen, V. Cheno, W. Cheno, P. Tang), 10) cedar pine [?] (Filatova), 11) Canadian Asarum [ginger] (Cavallito and Bailey), 12) nettle (various authors), 13) sanguisorbus (Plakhova and Gofshadt), 14) maize (Beninn'i) [Beninni?], 15) cherry laurel [Laurocerasus] (Danini and Gramenitskaya), 16) lemon (Danini and Gramenitskaya), 17) clematis (Plakhova), 18) onions (Filatova, Tokin and many other authors), 19) mandarin [Citrus reticulata] (Danini and Gramenitskaya), 20) juniper (various authors), 21) carrot (Aronov, Yakobson), 22) wild peony (Plakhova), 23) red pepper [Capsicum annuum] (Filatova), 24) fir

(Vitgeft et al.) [Witgeft?], 25) tomato (Korabel'nikov and Gimmel'farb), 26) large anemone (Ber) [Behr?], 27) anemones (Satsyperova), 28) radish (Tokin), 29) burdock (Cavallito, Bailey, and Kirchner), 30) sugar beet (Vagner), 31) Crepis taraxifolius (Khitli) [Hitley?], 32) pine (Danini et al.), 33) spiraea (Plakhova), 34) horseradish (Tokin), 35) garlic (Filatova, Tokin and many other authors), 36) bird cherry [Padus] (Danini and Gramenitskaya) and many other plants (various authors).

In recent times there has been a rapid growth in the number of studies of bactericidal activity of plant juices of higher plants. Studies have also been conducted in other countries. For example: Atkinson and Kainsford [1] [Page bottom - Aust. journ. of exper. biol. a. med. science, March 1946, v. XXIV] in 1946 reported that they had tested the leaves, flowers and roots of 450 higher plants, of which 410 belonged to the indigenous Australian flora. Of these, 38 had an unconditional bactericidal effect, mainly those in the Cruciferae, Myrtaceae and Pro[t]eaceae. The leaves, stems and flowers and sometimes the seeds and roots were placed into a small amount of water; the aqueous infusion was tested on *Staphylococcus aureus* and *S. typhi*.

Osborne [2 - Chronica botanica, 1945, v. IX, No 1/2]. reported on his study of over 2000 species of plants. He detected antibiotic properties in representatives of 63 genera belonging to 28 families. Particularly strong bactericidal action against *Staphylococcus aureus* and *E. coli* was found in the juice of *Magnolia acuminata* fruits. This author studied the bacterial properties of all the plants only relative to these bacteria.

While citing foreign authors currently studying bactericidal activity of the juices of higher plants, we should still keep in mind that the data of these authors, despite the probable irreproachability of their experiments, may not reflect the actual picture. These authors did not take into account many essential details while deciding on the success of the experiment. For instance, it was quite irrelevant to them how much time passed from the moment of gathering the plant to the time of the experiment, whereas in our experiments, as we have already seen, it is quite clear that some fractions of phytoncides are unusually

volatile and if one works slowly they may be lost from the experimenter's field of vision.

Not all the cited authors studied volatile fractions of phytoncides. We must take into account many other circumstances as well. The analytical methods of chemists, which might seem quite perfect, turn out to be very coarse for our purposes. Thus, without a doubt, the most valuable fractions of bactericidal volatile compounds given off during the first few minutes and seconds after preparation of the plant slurry turn out not to be detectable by chemical analysis.

In connection with the exceptional attention devoted in the past few years to antiseptics obtained from the molds (penicillin, etc.) and from soil bacteria (gramicidin, etc.), a large number of studies have been published on the bactericidal properties of the lower plants [i. e., fungi] and bacteria. Medical science has returned in its research to the thoughts expressed by I. Mechnikov: "It would appear from all signs that in nature and in the human body there are microbes which can be of the greatest use in the fight against infectious diseases." He was speaking of studying beneficial bacteria which protect us from disease-causing bacteria.

As is generally known, in 1877 Pasteur found that when anthrax microbes are cultured, their properties change if other bacteria are in the culture. Pasteur was at that time already considering the possibility of using certain bacteria for medical purposes. Some authors forget the genealogy [history?] of the study of antibiotics and date it from the work of Flemming on antagonistic relations between *Penicillium notatum* and bacteria, as well as on the antagonistic compounds formed by soil bacteria and fungi, known from the discoveries of R. Dubos and F. Flury.

It is entirely clear to us that, starting in 1934, several Russian investigators have done excellent research on the antagonistic relations between bacteria and other lower plants [sic]. We refer, for example, to Nakhimovskaya's "Antagonism between actinomycetes and soil bacteria" (1937). She alone studied 80 strains of actinomycetes and in 47 of them detected antagonism to soil bacteria. Nakhimovskaya determined that actinomycetes are not bactericidal relative to gram

negative bacteria, and she studied the morphological changes of bacterial cells when they are acted on by their antagonists. This study, along with those of several other Russian authors, was done from a broad biological viewpoint. The leading studies of antagonism in the world of microbes were done by the well-known school of B. L. Isachenko.

We should note in particular the brilliant studies of N. A. Krasil'nikov and his collaborators, which we will discuss in detail in the final chapter.

N. A. Krasil'nikov underestimated his own work and deprecated that of other Soviet scholars. Thus, in his very interesting book "Actinomycetes - antagonists and antibiotics" (1950), Krasil'nikov, not once mentioning phytoncides, makes the strange statement: "It is only after obtaining penicillin that higher plant antibiotics were sought".

A major contribution was made by microbiologist and plant physiologist D. M. Novogrudskiy, who published several excellent studies of bactericidal and fungicidal compounds secreted by lower plants - actinomycetes, the lower fungi and bacteria. As early as 1936 he published survey articles on this topic. [1 - D. M. Novogrudskiy. Antagonistic relations in microbes and biological methods of fighting fungal disease of cultivated plants. *Uspekhi. sovr. biol.*, 1936, vol. V. No. 3] Furthermore, his laboratory did outstanding work on the use of bactericidal compounds secreted by lower plants in the fight against pathogenic microbes which causes diseases of cultivated plants.

Let us make use of the studies of Novogrudskiy et al. to give a few small illustrations which might show the reader that as early as 1936 scientists had discovered the laws of antagonism in the microbial world, and had proved that bacteria and fungi secrete bactericidal and fungicidal factors into the environment. Here is a compendium, of course already outdated, put together from the data of various authors (Table 16).

One such table is sufficient to realize that the subject of bactericidal factors secreted by bacteria themselves is not new.

Table 16

Bacterial Antagonism

Antagonist	Inhibition	Lysis
<i>B. abortus</i> (R)	<i>B. abortus</i> (S) <i>B. anthracis</i> <i>B. acidilactici</i> <i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>albus</i> <i>Vibrio cholerae aviae</i> <i>Vibrio Finkler-Prior</i> <i>Vibrio cholerae asiaticae</i>	
<i>B. anthracis</i>		<i>B. diphteriae</i> <i>B. anthracis</i> <i>B. dysenteriae Shiga</i> <i>B. proteus</i> <i>S. paratyphi</i> <i>S. typhi</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>B. dysenteriae Shiga</i> <i>B. dysenteriae Flexner</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>B. anthracis</i>
<i>E. coli</i>		
<i>B. dysenteriae</i>		
<i>B. dysenteriae Shiga</i> (R)	<i>B. dysenteriae Shiga</i> <i>B. anthracis</i> <i>S. typhi</i> <i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>albus</i> <i>Vibrio cholerae</i>	
<i>B. fluorescens putidum</i>		
<i>B. mesentericus</i>		<i>Vibrio cholerae</i>
<i>B. mycoides</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>E. coli</i> <i>V. cholerae</i> <i>B. proteus</i> <i>M. tuberculosis</i> <i>S. typhi</i>	
<i>S. paratyphi</i>		<i>B. dysenteriae Shiga</i> <i>B. dysenteriae Flexner</i> <i>S. typhi</i> <i>Staphylococcus</i>
<i>S. paratyphi</i> <i>B. prodigiosum</i>	<i>S. paratyphi</i> (S) <i>B. anthracis</i> (S) <i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>albus</i> <i>Vibrio cholerae aviae</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio Finkler-Prior</i>	

Table 16

Bacterial Antagonism (continued)

Antagonist	Inhibition	Lysis
<i>M. pseudotuberculosis</i>	<i>B. anthracis</i> <i>S. typhi</i> <i>E. coli</i> <i>B. diphteriae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>B. anthracis</i> <i>B. diphteriae</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>S. typhi</i> <i>Vibrio metschnikovi</i> <i>Meningococcus</i> <i>Pneumobacillus</i>	
<i>Ps. aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>albus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>
	<i>Vibrio cholerae aviae</i>	
<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Vibrio cholerae asiaticae</i>	
<i>B. subtilis</i> <i>Diplococcus pneumo-</i> <i>niae</i>	<i>B. cholerae</i>	<i>Vibrio Finkler-Prior</i> <i>M. tuberculosis</i>
<i>Micrococcus</i> (Diplo- <i>coccus tetragenus)</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>E. coli</i> <i>S. typhi</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio cholerae aviae</i> <i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>albus</i> <i>S. typhi</i> <i>B. anthracis</i> <i>E. coli</i> <i>B. dysenteriae Flexner</i> <i>B. dysenteriae Shiga</i> <i>S. paratyphi B</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Diplococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus</i> <i>E. coli</i>
<i>Diplococcus pneumo-</i> <i>niae</i>		
	<i>B. anthracis</i> <i>Staphylococcus pyo-</i> <i>genes citreus</i>	
<i>Vibrio cholerae aviae</i>		

Table 16

Bacterial Antagonism (continued)

Antagonist	Inhibition	Lysis
<i>Vibrio cholerae</i> tidae	<i>Staphylococcus pyogenes</i> albus <i>S. typhi</i> <i>B. anthracis</i> <i>B. acidi lactici</i> <i>V. cholerae aviae</i> <i>V. Finkler-Prior</i>	<i>B. anthracis</i> <i>E. coli</i>

dioxide, etc. In connection with this, note for example the work of Sirotinin in the early part of this century. Also of interest is the dissertation, published in 1906, of R. M. Ebius, for a doctorate in medicine at Yur'yev University, "On so-called antagonism between bacteria".

From the thirties of this century, as has been shown, several Soviet authors have been occupied from a very broad biological perspective with issues of antagonism in the world of microbes. We do not consider it superfluous to note the table of fungal antagonist put together in 1936 by D. M. Novogrudskiy from the data of several authors (Table 17), or that on antagonists of bacteria and lower fungi (Table 18).

Table 17

Antagonism between Fungi
(Illustration of the Compendium of Novogrudskiy, 1936)

Name of Fungus	Fungi whose Growth and Life They Suppress
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Peziza sclerotiorum</i> , <i>Peziza tuberosa</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Helminthosporium teres</i>	<i>Fusarium coeruleum</i> , <i>Cytosporium ribis</i> , <i>Acrostalagmus cinnabarinus</i> , <i>Strigmatocystis</i> , <i>Ustilago violacea</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Helminthosporium sativum</i> , <i>Fusarium lini</i> , <i>Acrothecium Penicillium</i>
<i>Penicillium glaucum</i>	<i>Peziza sclerotiorum</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Peziza trifoliorum</i> , <i>Peziza tuberosa</i>
<i>Peziza sclerotiorum</i>	<i>Mucor racemosus</i> , <i>Phycomyces nitens</i> , <i>Mucor mucedo</i> , <i>Mucor stolonifer</i> , <i>Acrostalagmus cinnabarinus</i> , <i>Trichotecium roseum</i> , <i>Dematium pullulans</i> , <i>Fumago salicina</i> , <i>Peziza tuberosa</i> , <i>Peziza trifoliorum</i>
<i>Torula suganii</i>	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus aureus</i> , <i>Aspergillus awamori</i> , <i>Aspergillus oniki</i> , <i>Aspergillus giganteus</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Aspergillus soya</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus gymnosaridae</i> , <i>Monascus purpureus</i> , <i>Rhizopus nigricans</i>

The issue of antagonism in the world of bacteria has long interested Russian and world science. Mechnikov's theory on the aging of the body and his recommended methods of combatting premature aging are related to the idea of microbial antagonism. Mechnikov also experimentally studied topics related to the interactions of microbes. Thus, from a sample of stomach contents, he grew bacteria which, when combined with *Vibrio cholerae*, had a beneficial effect on the growth of the latter, while other bacteria which he extracted from guinea pig intestine were 'inhibitory'.

Gabricheskiy and Malyutin, as well as Blagoveshchenskiy (1890) studied the relations between *Vibrio cholerae* and *E. coli*, between *B. typhus* and *B. pyocyaneus*. Blagoveshchenskiy studied the interactions between *B. anthracis* and *B. pyocyaneus*.

Already by the end of the last [19th] century, and in the early part of this [20th] century, not only were many facts recorded in both in vitro and in vivo experiments about antagonism in the world of microbes, but attempts were made to study the reasons for these phenomena: was the nutrient media becoming exhausted, were some toxins or other products of bacterial metabolism secreted into the environment, what was the significance of the concentration of carbon

Table 18

Antagonism between Bacteria and Fungi (from Novogradskiy)

Name of Bacterium	Fungi which they inhibit
<i>Achromobacter</i> sp.	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium scirpi</i> <i>Fusarium lini</i> <i>Fusarium herbarum</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Sclerotinia Libertiana</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Ustilago zeae</i> <i>Ustilago levis</i> <i>Ustilago avenae</i> <i>Penicillium</i> sp.
<i>Bacillus</i> D*	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Basipsporium galliarum</i> <i>Sclerotium Rolfsii</i> <i>Glomerella cingulata</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Beauveria bassiana</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Ophiobolus graminis</i> <i>Actinomyces</i> <i>Acrostalagmus cinnabarinus</i> <i>Fusarium coeruleum</i> <i>Fusarium lini</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Sclerotinia Libertiana</i> <i>Zygorhynchus</i> <i>Gleosporium piperatum</i> <i>Alternaria crassa</i> <i>Ustilago zeae</i> <i>Ustilago avenae</i> <i>Alternaria solani</i> <i>Alternaria brassicae</i> <i>Alternaria tenuis</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Ophiobolus graminis</i> <i>Ustilago avenae</i> <i>Ustilago zeae</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium discolor</i> <i>Fusarium sulphureum</i> <i>Dothiorella gregaris</i>
<i>B. anthracis</i> <i>B. capsulatus</i> <i>B. mesentericus</i> <i>B. vulgares</i>	
<i>B. mycoides</i> <i>B. prodigiosum</i> <i>Ps. aeruginosa</i> <i>B. vulgares</i> <i>Bacterium</i> 45*	
<i>B. C-1</i> *	
<i>B. X</i> *	
<i>B. alealigenes</i> <i>B. translucens</i> <i>B. undulosum</i> <i>Myrobacterium</i> 1*	
<i>Pseudomonas phaseoli</i>	
<i>Pseudomonas juglandis</i>	

We do not have space to dwell here on the wonderful experimental work of Novogradskiy, in which the author not only considered indisputable the secretion of bactericidal and antifungal factors by various microorganisms, but in laboratory and semi-field experiments he attempted to put some soil microorganisms to the service of plant growers, recommending them as antagonists against microbes pathogenic to cultivated plants. The author set himself the tasks of using the phenomenon of antagonism for partial regulation of the soil microflora, using some microbes to completely or partially eliminate other microbes from the soil and to protect cultivated plants from their harmful action.

At Novogradskiy's laboratory, experiments were done on using bacteria in the fight against fungal diseases of wheat [Khudyakov]. They selected a highly virulent strain of *Fusarium graminearum* which was infecting wheat. They added this fungus to the soil along with its antagonist bacterium. The essence of various series of experiments and their results are shown in Table 19, which we borrowed from Novogradskiy's work cited above.

Table 19

Experiment in Using Bacteria in the Fight against Fungi which Infect Wheat (from Novogradskiy)

Vessel No.	Method of Infecting Soil	Plants	
		Healthy	Sick
1	Without fusarium, without bacteria	10	0
2	Infection only by fusarium	0	10
3	Bacteria added 1 day before fusarium	9	1
4	Bacteria added same time as fusarium	5	5
5	Bacteria added 1 day after fusarium	0	10

Other authors have also attempted to make use of antagonism in the world of microbes. Thus Kiesling [1933] reported on successful field trials using bacteria to protect potatoes against scab caused by *Actinomyces scabies*. If bacterial antagonists were added to soil intended for potatoes and infected with *Actinomyces scabies*, the tubers

were nearly free of scab. Weindling conducted experiments using the fungus *Trichoderma lignorum* to fight *Rhizoctonia*, the cause of a disease of citrus plants (damping off). In 1935 Allen and Haendler used *Trichoderma lignorum* experimentally to prevent the disease of cucumbers and peas caused by *Rhizoctonia*.

In recent years, in connection with the successes of penicillin, researchers in many countries have sought bactericidal factors in lower plants.

In order to give at least some idea of the scope of the recent work on bactericidal properties of lower plants, we provide a far from complete list of bactericidal products obtained for a specific practical medical purpose.

We borrow from the works of Krasil'nikov, Gauze and other authors the relevant though already aging materials (Table 20).

Table 20 Bactericidal, Bacteriostatic or Antifungal Properties of Lower Plants

Actinomycetes	Product secreted by Actinomycetes	Aspergillus	Product secreted by Aspergillus	Bacteria	Product secreted by Bacteria	Penicillium	Product secreted by Penicillium
Actinomycetes antibioticus	Actinomycin A & C	Aspergillus clavatus	Aspergillin Clavicin	B. brevis	Gramicidin Tyrothricin Tyrocidin	Penicillium citrinum	Citrinin
Actinomycetes albus	Actinomycetin	Aspergillus flavus	Aspergillilic Acid Flavicidin Flavicin	Ps. aeruginosa	Pyocyanase Pyocyanin	Penicillium claviforme Penicillium libratum	Claviformin
Actinomycetes griseus	Streptomycin	Aspergillus fumigatus	Fumigatin Fumigacin (helvolic acid)	B. simplex	B. simplex factor	Penicillium notatum Penicillium crustosum Penicillium chrysogenum	Glyotoxin
Actinomycetes lavendulae	Streptothricin			B. subtilis	Bacitracin Bacillin Subtilin Eumycin		Notatin Penicidin Penicillin
Proactinomycetes	Proactinomycin	Aspergillus nigrans Aspergillus niger Aspergillus oryzae	Nigrin			Penicillium patulum	Patulin
Proactinomycetes cyaneus	Litimocycin					Penicillium puberulum Penicillium cyclopium Penicillium spinulosum thom.	Penicillic acid Spinulosin

Thus in both the field of lower plants and the field of higher plants, we are faced with the fact of exceptionally broad distribution of the phenomenon of phytoncides in the plant world.

In 1947 Krasil'nikov, Korenyako, Nakhimovskaya, Tauson et al. studied more than 5000 cultures of actinomycetes. About 40% of these turned out to be antagonists. In species of *Aspergillus violaceus*, *Aspergillus griseus* and others the number of strains in which phytoncides were detected was 60%. As indicated by Krasil'nikov, among the spore-forming bacteria studied by Khetch [Hatch?] and Veber [Weber?] [1939], the number of antagonists is about 40%, but from his data it is 30%. Two species of molds - *Aspergillus* and *Penicillium* - turned out to be especially rich in antagonists: from 20 to 30 %

When presenting these data, take into account that the methods used to detect phytoncidal property of some lower plant hardly guaranteed a precise result (see the conclusion). It is highly likely that under natural conditions and under appropriate conditions of culturing bacteria, fungi and actinomycetes, phytoncidal compounds are always secreted into the environment.

There is no doubt that at the time of publication of this book the list of lower organisms which secrete phytoncides is already out of date: literally every month there are new reports in this field. At present the most interest is shown especially in single celled algae. Many works (Pratt, Daniels, et al.) are devoted to chlorellin - a bactericidal compound secreted into the environment by the alga *Chlorella vulgaris* Beyerinck [1 - Science, 1944, v. 99, 2574].

To judge how universal the phenomenon of phytoncides is in nature, recent studies of higher fungi are of interest. The few experiments on fungi done in our laboratory to determine whether they contain volatile phytoncide fractions have not met with success, but these cannot be taken as decisive, and new studies are needed. There have also been successful studies done in recent years by both Soviet and foreign authors who investigated tissue juices of higher fungi.

Of the work of Soviet researchers, let us consider that of Vasil'kova, Mulyarchik and Solkina. They studied 79 species of higher fungi in the form of fruiting bodies and 4 in the form of mycelium. The objects of action were *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. typhi*, *S. paratyphi A* and *B*, and *B. dysenteriae* Hiss Shiga. The fungi were collected in the environs of Leningrad.

The experiments with fruiting bodies of fungi were done as follows. They tested freshly pulverized matter from the fruiting body. They cut pits in the meat-peptone agar on which the bacteria were grown and filled them with matter from the pulverized fruiting body. It was assumed that the juice, impregnating the agar, would exert an antibacterial action in the vicinity of the pit, and the researcher would detect a sterile zone after the dishes had spent an appropriate amount of time in an incubator. Four fungi were tested in the form of a pure culture on agar. As seen from the author's table, there was obvious antibacterial action relative to all the bacteria studied or to some forms in 33 species, including 3 species (out of four) of the wood-destroying fungi. Furthermore, in 7 species of fungi there was weak bactericidal

action against these or other bacteria. In all 4 species of Ascomycetes they found strong bactericidal action relative to all the bacteria studied with the exception of one species, which did not act on typhoid bacilli or *E. coli*.

Of the basidial fungi tested in the form of a pure culture, the most active in the opinion of the authors were *Radulum membranaceum* and *Fomes marginatus*, and of those tested in the form of fruiting bodies the most active were *Hydnum fulgineoalbum*, *Polyporus [polyporus] sulfureus*, *Clitocybe rivulosa*, *Cortinarius sp.*, *Paxillus panuoides*, and *Marasmius perforans*.

We were interested in certain details of this study. Thus, consistent with our data obtained from testing protozoa, the authors did not detect antibacterial action in certain edible fungi such as *Lactarius vietus* and *Lactarius torminosus*, or in the poisonous red myxomor.

It is highly interesting that when tested in a culture the fungus *Fomes marginatus* turned out to be bactericidal (secreting antibacterial factors into the environment), though a test of the juice of its fruiting body did not give a positive result.

The authors present data of researchers from other countries. Of these data I will dwell on the studies of Wilkins and Harris [1 - Wilkins W. N. and Harris G. C. M., Ann. appl. biol., 1944, 31, 4: Nature, 1944, 154] (cited by Vasil'kova, Mulyarchik and Solkina). They tested the action of juice squeezed from the fruiting bodies of more than 700 species of fungi on *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa* [aeruginosa]. A drop of juice was placed into a pit on the agar plate on which bacteria had been seeded. The authors note in particular 50 species of fungi which were the most bactericidal.

As we can see, studies done on higher fungi by Russian and foreign authors give additional important material which supports the universality of phytoncides in nature. I should mention that the experimental technique of many of these researchers is not perfect. This technique (placement of plant juices or plant slurry in a pit on an agar plate), not infrequently used in our laboratory, does not give positive results in all cases. When negative results are obtained, there is always the question as to whether there were any changes in the antibacterial compounds when they diffused into the agar layer.

In studies by various authors dealing with higher fungi, it remains unclear how soon the experimenters tested the juices or plant slurry after preparing them. From this circumstance, to which many authors pay no attention, I am inclined to conclude that experiments with higher fungi at another institution might give even more interesting results.

Vasil'kov, Mulyarchik and Sol'kina, presenting the data of Wilkins and Harris, make the entirely justifiable comment that their experiments were lacking in technique. The juice of many fungi was sent by mail from various places in England (!!). Of course this juice could have undergone very great chemical changes before it was tested on bacteria. It is sufficient to note that we would not obtain positive results for the phytoncidal action of onion if the onion slurry had been sent by mail.

In other cases testing was done with dried fruiting bodies. According to the data of Vasilkov, Mulyarchik and Sol'kina, many fungi when dried completely or partly lose their bactericidal properties.

Particular attention has been paid to the bactericidal properties of the common edible plants onion and garlic. It was shown clearly that phytoncides of these plants have bactericidal and bacteriostatic properties relative to several bacteria.

Here are some data on garlic. Phytoncides of this plant are bactericidal or bacteriostatic for the following microbes: *B. tuberculosis* BCG and virulent strains of human and animal types, *E. coli*, *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B., *B. dysenteriae* Shiga, *B. Dysenteriae* Flexner, *B. dysenteriae* Hiss. *B. proteus*, *S. Schöttmülleri*, *Sarcina*, *B. diptheriae* Park, *B. Diptheriae* gravis, *B. Diptheriae* intermed., *B. diptheriae* mitis, *B. tularensis*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Diplococcus*, *B. Subtilis*, *B. perfringens*, *Ps. aeruginosa* [aeruginosa], *S. enteritidis* (Gaertner), *Vibrio cholerae asiaticae*, *Vibrio* El-Tor., *Vibrio metschnikof*, *Vibrio fluorescens*, *Vibrio Finkler-Prior*.

We will describe the results of some studies in detail. This will give us an idea of the strength of the bactericidal action of phytoncides and will give some reference point to a physician in possible clinical studies. Of course only individual illustrations can be provided here of studies of bacterial properties of phytoncides of higher plants, which in

recent years in the USSR have been quite widespread, especially in connection with the needs of medicine.

A. Studies of A. Filatova

For the rest of this book we will not adhere to the chronological order of research on bactericidal action of phytoncides, but I should first mention the original work in this area on the basic facts, obtained in 1931-1936 by A. Filatova. She is indisputably a pioneer in the study of bactericidal properties of phytoncides.

Filatova studied the action of fresh onion juice on *Staphylococcus albus* and *Sarcina*.

Experimental setup. Two drops of a billionth suspension of *staphylococcus* were placed on the bottom of a sterile Petri dish to which were added 10-15 drops of just-squeezed onion juice, and they was covered with agar. The culture thus prepared was placed into an incubator at 36-38°C and the growth of bacteria was observed every day. As a control she used the same culture but without adding onion juice. Similar experiments were done with *sarcina*. She carried out 29 experiments with *staphylococcus* and of these, 27 gave a positive result: in several cases weak growth relative to the luxuriant growth of the control, and in some cases even complete absence of growth. Of 10 experiments with *sarcina*, 6 gave a positive result.

Results of Direct Action of Onion Juice

Experiment No.	On sarcina	Experiment No.	On staphylococcus
1	{ Control 185 Experiment 25	1	{ Control 130 colonies Experiment Sterile
		2	{ Control 22 colonies Experiment 3 colonies

In the following series of experiments the bactericidal action of volatile fractions of phytoncides on *staphylococcus* and *sarci* was explained.

Two drops of a billionth suspension of staphylococcus or sarcina were placed on the bottom of a Petri dish, agar was added, and the dish was covered. A second Petri dish was used, on the bottom of which was just-ground onion. The dish was placed into an dessicator, with two glass rods on it onto which the prepared culture was also placed (an open dish, top down); the dessicator was covered. After 10 minutes the culture was taken out and the dish covered and placed into an incubator, after which daily observations were made of bacterial growth. Control cultures were prepared in the same way as the experimental ones but not placed into a dessicator. They were placed together with the experimental ones into an incubator at 36-38°C.

A total of 40 experiments were conducted. In 24 cases an unconditionally positive result was obtained, in 9 cases there was identical growth in the experimental and control plates, and in 7 cases the growth in the experimental plates surpassed that in the control plates.

Effect of Phytoncides of Garlic on Staphylococcus and Sarcina.

The direct action of garlic juice on the same bacteria was studied. The experimental technique was the same as in studying the direct action of onion juice on bacteria. All 8 results for staphylococcus were positive: despite the usual good growth in the control cultures, the experimental cultures gave no growth. Experiments with sarcina gave the same results.

Experiments were conducted on the action of volatile fractions of garlic phytoncide on the same bacteria. The technique of the experiments was the same as for studying the action of volatile fractions of onion. Of 11 experiments with staphylococcus, 6 gave a clearly positive effect, in 1 experiment growth was identical with the control, and in 4 experiments the growth of the cultures surpassed that of the control. Of 11 experiments with sarcina, 8 gave a strongly positive result, 1 gave identical growth in the experiment and the control, and 2 gave stronger growth in the experiment than in the control.

Effect of Vapors of Allyl-mustard Oil on Staphylococcus and Sarcina.
The technique in this series of experiments was no different than in the preceding ones. Mustard was prepared as follows: a small amount of dry mustard seed was carefully ground in a small amount of warm water. The bacterial cultures were treated with the volatile compounds of mustard.

The results were as follows. Of 20 experiments with staphylococcus, 14 gave a clear positive result, in one experiment growth was identical in the control and the experiment, and in 5 experiments the test material surpassed the control. Of 21 experiments with sarcina, in 15 the author observed a positive result.

Filatova also obtained a positive result in experiments with typhoid bacillus acted on by the volatile fraction of onion phytoncide. Of 18 experiments, 13 gave a completely obvious positive result. Table 21 is a general summary of the experiments.

Table 21

Action of Juice			Action of Vapors	
plant	no. of experiments	no. of positive results (%)	plant	no. of experiments
				no. of positive results (%)

Effect of Phytoncides on Staphylococci

onion garlic	29	93	onion garlic mustard	40	60
	8	100		11	55
				20	70

Effect of Phytoncides on Sarcina

onion garlic	10	60	garlic mustard	11	73
	5	100		21	71

The results of Filatova's experiments prove that phytoncides of onion and garlic have very strong sterilizing properties.

The question arises as to whether phytoncides act on the nutrient medium, making it unsuitable for the growth of bacteria, or whether they act directly on the bacteria. Experiments were designed to solve this problem. Two drops of a billionth suspension of staphylococcus and 15-20 drops of just-prepared onion juice were placed into a Petri

dish, and 2 drops of a billionth suspension of staphylococcus and 15-20 drops of saline solution were placed into another Petri dish. After 15 minutes, the suspension was taken from the first Petri dish by pipette and 1 drop of it dropped into each of the prepared experimental dishes. The second Petri dish, used as a control, was similarly inoculated. Agar was poured into both the experimental and the control dishes, they were placed into an incubator at 36-38°C, and daily observations were made of their growth.

The results of this series of experiments were as follows. Of 64 experiments, in 46 there was excellent growth in the control cultures but quite insignificant growth in the experimental ones. Similar experiments with garlic phytoncide gave the same results: of 26 experiments, in 23 the author observed a clear positive result. Thus there is no doubt that phytoncides act directly on bacteria.

Experiments of a somewhat different nature were also conducted. First 10-15 drops of just-prepared onion juice and agar-agar were poured into experimental Petri dishes, and just agar-agar into control dishes. The experimental and control dishes were placed into an incubator for 1-2 days, after which they were removed and 1 drop of a billionth solution of staphylococcus (inoculated as a streak) was placed onto the surface of the agar in each dish. The experimental and control cultures were placed into an incubator at 36-38°C and daily observations were made. A total of 30 experiments were carried out. In several cases, the growth of the experimental cultures turned out to be even better than in the control, and in several cases it was identical with that of the control. It is difficult to interpret the results, but it is clear that if the action of the phytoncides were due only to a change in the medium, and not to direct action on the bacteria, the experimental results would not be subject to analysis.

In the next series of experiments done with the same technique, the action of garlic juice was tested. A total of 10 experiments were done. The results turned out entirely different: there was luxuriant growth in the control cultures, but the author observed no growth at all or only weak growth in the experimental ones. This study was done 15 years ago, and the results were completely incomprehensible to us. They forced us to assume that garlic phytoncides can act not only directly on bacteria, but on the nutrient medium, as a consequence of which it becomes unsuitable for bacterial growth. At present, in view of studies by I. Kamnev, R. Pevgova, I. Toroptseva et al., there is hardly room

for any doubt: what is happening is that garlic is in the group of plants which retain their phytoncidal properties for hours or days. The very first studies of bactericidal properties of phytoncides showed that we do not by any means always obtain a positive result, but that we should nevertheless believe in the amazing power of the new bactericides.

The reason for individual failures should be sought primarily in the poor quality of the source of phytoncides. We know now that plants at different stages of vegetation, at different times of year, under different soil and climatic conditions, or in different physiological states, and so forth, may produce quite varied amounts of phytoncides. Even plants with the strongest bactericidal properties such as onion or garlic can have unexpected 'misfires'.

Note by the way that some researchers, most likely lacking the time and desire to carefully study the bactericidal properties of phytoncides, were the victim of errors: on the basis of negative results of a single experiment with the first onion or garlic that came into their hands, they boldly concluded that these plants had no bactericidal properties. Many years of experience have taught researchers in the area of phytoncides to be more conservative in their conclusions. Before conducting any experiments with onion or garlic, one should ascertain the quality of the material by the protozoan test. There have also been cases where the bulbs of onions or garlic, stored for a long time under unfavorable conditions, exposed to low temperatures, etc., had almost no bactericidal factors. It is really foolish to determine the bactericidity of a plant based on such individual negative results which depend not on the plant but on its owners. Only hopeless skeptics can do this.

Researchers in the field of phytoncides always run into facts during their experiments which require independent experimental interpretation. It is easy to assume that when approaching a study of the effect of phytoncides, if you carry out one or two experiments and run across some fact, you will become disenchanted and declare that some plant is nonbactericidal. Here are some examples.

When is it possible to obtain a better bactericidal or fungicidal effect, when testing the action of volatile phytoncides of a plant (such as garlic) or if the bacterial cells are placed into the juice of this plant?

Vapors of allyl-mustard oils isolated from mustard seeds have

exceptionally high bactericidal and fungicidal strength relative to several bacteria and fungi. Will we obtain a better effect if the bacterial cells are in direct contact with the mustard, which is the source of the volatile bactericidal compounds? It turns out that with several other experimental conditions being identical, we obtain a much better antimicrobial effect from the volatile compounds isolated from this source of phytoncides than in the case of direct contact with this source. There is still no complete explanation of this fact.

Without a doubt, however, a bacterial cell located for instance in 'mustard matter', will be subject to the effect of bactericidal compounds found in the microspace in which it is located. If the bacterial cell is located on the surface of the mustard, it will be exposed to continuous bombardment with volatile bactericidal compounds. These and some other reasons of a physicochemical nature explain why volatile phytoncides of a plant are more effective than the tissue juice of the same plant. This pertains also to experiments with tuberculosis bacilli. This is, however, not a general law and it depends on the source of the phytoncides and on the specific conditions of the experiment.

Let us return to the studies of A. Filatova. She began, and N. Krasnopevtseva continued, very interesting studies of the effect of phytoncides of common food plants on the bacterial flora of the oral cavity. In 1936-37 Filatova carried out the following experiments, which were explorations in a new field. A scraping was taken from the oral mucosa of a healthy person for culturing. Next the person chewed onion for 10 minutes or garlic for 1-3 minutes, and another scraping was taken. In all cases the cultures were done in the same medium under the same conditions. It turned out that despite the usual picture of good growth of bacteria, there was complete sterility or delayed bacterial growth in the dishes where a culture was made from the scraping of an oral cavity after chewing onion or garlic.

In 1942 N. Krasnopevtseva, under G. Nebolyubova and B. Tokin, carried out special studies on this topic. Using a sterile pad or a platinum loop, they took a scraping from the oral mucosa and cultured it as a streak in a Petri dish with an agar medium. Immediately after culturing, the experimental dishes were exposed to the action of the volatile fractions of phytoncides of a slurry of the base of a bulb for 3, 5, or 10 minutes. For this purpose the dish with the culture was inverted for 3, 5 or 10 minutes over another Petri dish on whose bottom

was the just-prepared slurry. The controls were dishes with a culture that were not acted on by phytoncides. All the dishes were placed into an incubator at 36-38°C. Daily observations were made, noting the dynamics of growth of the colonies.

When the phytoncides acted for 5 [sic, for 3] minutes, in 6 experimental dishes out of 10 there was complete sterility, in 3 dishes the growth was identical to that in the controls, and in 1 experimental dish the growth exceeded that of the control.

When the phytoncides acted for 5 minutes, in 8 experiments out of 10 there was complete sterility and in 2 cases growth was delayed in comparison with the control.

When the phytoncides acted for 10 minutes, in 5 experiments out of 10 there was complete sterility, in 3 experiments delayed growth, and in 2 growth identical to that of the control.

We give below one of the experimental observation logs.

1. 10 hours after inoculation: (vapors of onion phytoncide acting for 3 minutes): a) control culture -- 11 colonies; b) experimental culture -- complete sterility
2. 15 hours after inoculation: a) control -- 41 colonies; b) experimental culture - complete sterility
3. 20 hours after inoculation: a) control culture -- culture streak clearly visible, and about 200 colonies clearly distributed along its path; b) experimental culture - there are colonies (30).
4. 24 hours after inoculation: a) control culture -- luxuriant growth; b) experimental cultures - 49 colonies.

The following series of experiments were done as follows. A scraping was taken from the oral cavity of a healthy person to culture on an agar-agar medium. Then for 3 or 5 minutes he was given onion to chew, after which another scraping and culture were done. The experimental and control dishes were placed into an incubator at 36-38°C. Daily observations were made of colony growth.

Out of 10 experiments (chewing onion for 3 minutes) in 9 there was no growth for 24 hours after inoculation, and in 1 experiment after 15 hours 42 colonies were detected. Out of 10 experiments (chewing onion for 5 minutes), in 7 there was no growth for 24 hours after inoculation and in 3 experiments there were colonies after 15-20 hours. The control in all cases gave luxuriant growth.

Experiments were also done with garlic phytoncide. Immediately after inoculation the experimental dishes were exposed to the action of the volatile fractions of garlic phytoncides for 3 or 5 minutes. Of 10 experiments with phytoncide vapor for 3 minutes, in 9 of them there was complete sterility for the first 2 days after inoculation, and in 1 there was growth identical with the control.

Of 10 experiments in which the vapors acted for 5 minutes, in 8 there was complete sterility, in 1 growth was identical with the control, and in 1 there was stronger growth than in the control dishes. Experiments with chewing garlic gave a hundred percent positive results: it was sufficient to chew garlic for 1 minute in order to completely destroy the bacterial flora of a healthy oral cavity. Of course in all these cases it is the surface of the mucus membrane that we are talking about.

Krasnopevtseva studied the effect of allyl-mustard oil vapors on the microflora of the oral cavity. Of 10 experiments with this action for 1 minute, in 9 there was no growth for 24 hours and only in 1 experiment, after 22 hours, were there 2 colonies. Similar results were obtained after 3 and 5 minutes of action.

Experiments with just-ground red pepper seeds gave a positive result.

Table 22 lists the results of all the series of experiments.

Table 22.

Effect of Plant Phytoncides on Bacterial Flora of the Oral Cavity

Plant	Total number of experiments	Time of action (in minutes)	Number of positive results		Number of experiments	
			complete sterility	delayed growth	with growth in the control and experimental dishes	with negative results
Onion	20	3	15	1	3	1
"	20	5	15	5	-	-
"	10	10	5	3	2	-
Garlic	10	3	9	-	1	-
"	10	5	8	-	1	1
"	5	10	5	-	-	-
Red pepper [capsicum]	5	3	3	2	-	-
"	5	5	2	-	2	1
"	5	10	1	-	4	-
Mustard	10	1	9	1	-	-
"	10	3	8	2	-	-
"	5	5	3	1	1	-
"	5	10	2	1	1	-
Total	120		85	16	15	3

Total percentage of positive results - 71

B. Effect of Phytoncides on BCG Tuberculosis Bacteria

As is generally known, after 230 successive reinoculations under identical conditions at 38°C for 13 years, the BCG strain lost its virulence and at present is widely used to vaccinate children. This does not mean, however, that the BCG bacillus differs in principle in its physicochemical and biological properties from the virulent strain. BCG bacilli retain their original acid resistance and can be stained by Tsil's method.

[Translator's Note: There is a break in the page numbering between 109 and 143. The fragment of paragraph at 143 top was not translated.]

4. Bactericidal Properties of Plant Essential Oils

In the chapters on protozoa I cited experimental proof of the exceptional protistocidal strength of the essential oils of plants. I will now discuss the bactericidal properties of essential oils. This is not a particularly new topic, since pharmacologists and toxicologists have long known of the bactericidal properties of essential oils of certain plants (thyme, thymol, eugenol, vanillin, geranium oil, cinnamon and lemon oils, etc.). In the 1880s and 1890s catgut was widely sterilized using the essential oils of coniferous plants.

N. Plakhova, under my guidance, studied the effect of essential oils on bacteria (1944). Using a platinum loop, she placed the test culture into the essential oil and after a certain time had passed inoculated onto an appropriate nutrient medium. A total of about 250 observations were made, all with clear indication of the strong bactericidal action of this oil on dysentery bacteria (Shiga and Flexner microbes). She studied the essential oils of hyssop (*Hyssopus officinalis*), dragonhead (*Dracocephalum moldavicum*), marjoram (*Origanum majorana* [majoranel], basil (*Ocimum canum*), and wormwood (*Artemisia Sieversiana*). The strongest bactericidal action was that of the essential oil of hyssop, which even in a 1:800 relative ratio by weight to that of the microbe killed all microbial cells of Shiga and Flexner after a half hour exposure.

Nearly as strong a bactericidal action on these same bacteria was shown by the essential oil of dragonhead: at a 1:80 ratio of oil to microbe a five-minute exposure was sufficient to obtain sterility. Even with a dilution of 1:640 there was full sterility, but one and a half hours exposure was required for this. Two or three minutes of action of the essential oil on Shiga microbes was sufficient for complete sterilization. The essential oils of wormwood and basil proved to be relatively less bactericidal, although their bactericidal ability is also amazing. At a 1:80 dilution, the essential oil of wormwood was sufficient to sterilize Shiga completely after 5 minutes exposure.

Experiments using the method of the trail formed by a drop of some oil running along agar inoculated with bacteria showed that not only

was the trail sterile, as a rule, but so was the rest of the surface of the agar plate.

We did experiments with vapors of essential oils, for which we placed a drop of oil into a pit on a glass slide with a hanging drop containing bacteria. We studied the effect of vapors of essential oil of hyssop on typhoid bacillus: a 10-15 minute exposure was sufficient to stop the movement of most of the cells. Unfortunately the mechanism of action of the essential oils and of natural volatile fractions not mutilated in a chemical laboratory is still not clear. Note that after four-hour contact of bacteria with an essential oil, the shape of the bacterial cells apparently did not change or changed only slightly - there were elongated cells with broadened ends. The exact details of the reaction of a bacterial cell to the action of essential oils is completely unknown.

We might limit our report to these data. But most likely someone will be specially interested in the bactericidal properties of essential oils and we will therefore cite an unpublished dissertation by N. Plakhova giving more detailed data which are summarized in table form (Table 31, 32, 33, and 34).

Table 31.
Effect of Essential Oil of Wormwood *Artemisia Sieversiana* on *B. dysenteriae* Shiga (from Plakhova).

Exposure time	Volume ratio of essential oil to microbial suspension	Results of experiments after 24 hours			Observations on subsequent days		
		complete sterility	isolated colonies	growth no different from control	complete sterility	isolated colonies	growth no different from control
5 min	1:3	+	-	-	+	-	-
5 min	1:20	+	-	-	+	-	-
5 min	1:40	+	-	-	+	-	-
5 min	1:80	+	-	-	+	-	-
15-30 min	1:160	+	-	In 6 cases	+	In 7 cases	-
1-3-4-5-7-24 hours		in 3 cases			In 2 cases		
1-4-6 hours	1:240	0	-	In all cases	-		-

Table 32

Effect of Essential Oil of Ocimum canum Sims
on *B. dysenteriae* Shiga (from Plakhova)

Volume ratio of essential oil to microbial suspension	Exposure time	Results of experiments after 24 hours				Observations on subsequent days		
		complete sterility	isolated colonies	growth no different from control	complete sterility	isolated colonies	growth no different from control	
1:3	5 min	+	-	-	+	-	-	
1:10	5 min	+	-	-	+	-	-	
1:20	5 min	+	-	-	-	-	-	
	1 hour	in 2 cases		in one case				
1:80	24 hours				+			
	5-30 min			in 2 cases	In 2 cases	-	in 3 cases	
	1 hour	+	in one case					
	1.5-24 hours	in 2 cases						
1:320	15-30 minutes	+		in 4 cases	+	-	in 7 cases	
	1 hour	in 5 cases	-		in 2 cases			
	2-3-4- 5-7- 24 hours							
1:400	1 hour- 4-6 hours	in 1 case	-	in 2 cases	-	-	-	

Table 33

Effect of Essential Oil of Dragonhead Dracocephalum
moldavicum on *B. dysenteriae* Shiga (from Plakhova)

Volume ratio of essential oil to microbial suspension	Exposure time	Results of experiments after 24 hours				Observations on subsequent days		
		complete sterility	isolated colonies	growth no different from control	complete sterility	isolated colonies	growth no different from control	
1:3	15 min	+	-	-	+	-	-	
1:8	5 min	+	-	-	+	-	-	
1:20	5 min	+	-	-	+	-	-	
1:40	5 min	+	-	-	+	-	-	
1:80	5 min	+	-	-	+	-	-	
1:160	15 min	+	-	-	+	-	-	
1:240	1-4-6 hours	-	in 3 cases	-	-	-	-	
1:320	1-4-6 hours	+	-	-	+	-	-	
1:640	1.5-4-5- 6-24 hours	+	-	-	+	-	-	

Table 34
Effect of Essential Oil of Hyssop *Hyssopus officinalis*
on *B. dysenteriae* Shiga (from Plakhova)

Volume ratio of essential oil to microbial suspension	Exposure time	Results of experiments after 24 hours			Observations on subsequent days		
		complete sterility	isolated colonies	growth no different from control	complete sterility	isolated colonies	growth no different from control
1:15 1:20	5 min	+	-	-	+	-	-
	5-30 min	+	in 2 cases	in 3 cases	-	-	in 5 cases
	1 hour	in 7 cases					
1:40 1:60	1.5-24 hrs						
	5 min	+	-	-	-	in 3 cases	-
	5-30 min	in 4 cases	in 2 cases	-	+		-
1:270 1:400	1-2-4-24 hrs				in 3 cases		
	24 hrs	-	-	+			
	1-4-6 hrs	in 2 cases	in 1 case	-			in all cases
1:800 1:1600	1-4-6 hrs	+	-	-	-	-	-
	1.5 hours	+	-	-	+	-	-
	24 hours				+	-	-

Of interest are I. Toroptseva's studies [1 - I. Toroptsev. Materials on phytoncides. Diss., Tomsk, 1947] of the essential oils of onion and garlic. A plant slurry was prepared and treated with a four-fold volume of ethyl ether. After 24 hours the ether was poured off and the slurry was evaporated in the cold. After evaporation, there remained an insignificant quantity (about 1/500 the volume of the top layer) of an oily yellow liquid with a sharp garlic odor. This oil turned out to be highly protistocidal (it instantly killed single-celled animals) and bactericidal: the essential oil of garlic killed *Staphylococcus aureus* in a dilution of 1:10,000. The essential oil of onion obtained in the same way killed infusorium in the first few seconds; it killed *Staphylococcus aureus* at an oil dilution of 1:3,000.

Recently many researchers have turned their attention to essential

oils. O. Shishkina [1 O. Shishkina, Khirurgiya, 1944, 4] detected antiseptic properties in essential oils of the fruits and leaves of *Citrus bergamia* Risso et Poit (bergamot oil), of the leaves of *Eucalyptus globulus* and *E. citriodora* (eucalyptus oil), and of *Pelargonium odoratissimum* (geranium oil). The objects of action were *S. aureus*, hemolytic streptococcus, *B. pyocyaneus*, *B. proteus*, Friedlander's bacillus, and microbes of the intestinal group.

I. Gusynin [2 - I. Gusynin. Doklady VASKhNIL, 1942, Nos. 3-4] by distilling with water vapor, isolated a substance which at a dilution of 1:16,000 inhibits the growth of certain bacteria (*Staphylococcus albus*, *Proteus*, etc.)

Seegal and Holden [3 - B. Seegal and M. Holden, Science, April 1945, v. 101, 20] proved that the juice of crowfoot [*Ranunculus*] is bactericidal for many gram-negative and gram-positive cocci.

All these studies, done in our laboratory and elsewhere, return science essentially to the end of the past [19th] century, when the bactericidal action of essential oils was already known. But in science, it appears, there is never any simple repetition of stages that have been passed through: something new to medicine and biology will come out of these studies.

78421

45. Семейство Oleaceae

<i>Fraxinus exelsior</i> L.	Ясень высокий	25
<i>Jasminum sambac</i> Alt.	Самбак	5
<i>Ligustrum japonicum</i> Thunb.	Бирючина японская	
<i>Ligustrum junnanense</i> L. Henry	Бирючина	35
<i>Ligustrum lucidum</i> Ait.	Бирючина блестящая	13
<i>Ligustrum ovalifolium</i> Hassk.	Бирючина овальнолистная	6
<i>Ligustrum ovalifolium</i> Hassk. v. <i>Legelianum</i> L.	Бирючина овальнолистная	15
<i>Ligustrum ibota</i> Sieb.	Бирючина ибота	12
<i>Ligustrum vulgare</i> L.	Бирючина обыкновенная	26
<i>Olea europaea</i> L.	Маслина европейская	16
<i>Osmanthus ciliifolius</i> hort.		9
<i>Phillyrea latifolia</i> L.	Каменная липа широколистная	11
<i>Syringa vulgaris</i> L.	Сирень обыкновенная	20

46. Семейство Orchidaceae

<i>Plantatthera bifolia</i> (L.) L. C. Rich.	Любка двулистная	30
---	------------------	----

47. Семейство Pinaceae

<i>Abies cephalonica</i> Loud.	Пихта греческая	17
<i>Abies numidica</i> De Lannoy	Пихта нумидийская	21
<i>Abies pinsapo</i> Boiss	Пихта испанская	20
<i>Abies sibirica</i> Ledeb.	Пихта сибирская	5
<i>Biota orientalis</i> Endl.	Биота восточная	17
<i>Cedrus atlantica</i> Manetti.	Кедр атласский	4
<i>Cedrus deodara</i> Loud.	Кедр гималайский	10
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> (Andr.) Parl.	Кипарисовик Лоусона	10
<i>Picea canadensis</i> Britt.	Ель канадская	6
<i>Picea excelsa</i> Link.	Ель европейская	60
<i>Picea morinda</i> Link.	Ель гималайская	7
<i>Picea obovata</i> Ledeb.	Ель сибирская	62
<i>Picea pungens</i> Engelm.	Ель колючая американская	20
<i>Picea sitchensis</i> Carr.	Ель ситхинская	20
<i>Pinus banksiana</i> Lamb.	Сосна Банкса	6
<i>Pinus bungeana</i> Zucc.	Сосна Бунге	8
<i>Pinus eldarica</i> Medw.	Сосна эльдарская	15
<i>Pinus pallasiana</i> Lamb.	Сосна крымская	10
<i>Pinus pithyusa</i> Stev.	Сосна пицундская	15
<i>Pinus sibirica</i> Mayr.	Сосна сибирская	15
<i>Pinus silvestris</i> L.	Сосна лесная	10
<i>Pseudotsuga taxifolia</i> Britt.	Лжетсуга тиссолистная	25
<i>Thuja plicata</i> D. Don.	Туя складчатая	5

48. Семейство Plantaginaceae

<i>Plantago major</i> L.	Подорожник большой	90
--------------------------	--------------------	----

49. Семейство Platanaceae

<i>Platanus orientalis</i> L.	Платан восточный	3
-------------------------------	------------------	---

7842

Глава IV БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ФИТОНЦИДОВ

Методика экспериментирования. — Об универсальности явления фитонцидов среди высших растений. — Фитонциды низших растений. — К источнику вопроса об «антибиотиках». — Роль русских ученых. — Первые исследования бактерицидных свойств фитонцидов. — Опыты с микрофлорой полости рта. — О влиянии фитонцидов на туберкулезную бациллу штамма ВСГ. — Фитонциды и микрофлора инфицированных ран (исследования Торопцева и Филатовой)

Пионером в области изучения бактерицидных свойств летучих веществ, выделяемых растениями, нужно считать А. Филатову, которая, по моему поручению, вместе с А. Тебякиной в 1931—1933 гг. провела соответствующее исследование и доказала мощное бактерицидное действие фитонцидов на *E. coli*, *B. proteus*, *Staphylococcus alba*. Впоследствии А. Филатова значительно расширила свои исследования, которые оказались отправным пунктом для новых многочисленных поисков микробиологов в этой области. Ей и Торопцеву принадлежит инициатива смелого введения фитонцидов в медицинскую практику при лечении инфицированных ран, — инициатива, давшая прекрасные результаты во многих военно-лечебных учреждениях Советского Союза во время Великой Отечественной войны.

Напомним полученные разными исследователями важнейшие факты, подтверждающие бактерицидные свойства фитонцидов. Но ботаники, зоологи, медики и специалисты микробиологи, интересующиеся явлением фитонцидов как микробиологической проблемой, не могут удовлетвориться только изложенным едес и должны обратиться к специальным работам, вышедшим в последние годы.

Применявшаяся разнообразная техника опытов состояла из следующих основных приемов (рис. 18).

1. Производят посев бактерий штрихом или газонем на твердую питательную среду. На поверхность среды приливают 1—15 капель бактерицидного сока соответствующего растения. Изучают динамику роста бактериальной культуры в термостатных условиях (рис. 18, А).

2. На дно чашки Петри кладут только что приготовленную кашицу того или иного растения, исследуемого на бактерицидные свойства. Посев бактерий на твердой среде обрабатывают летучими веществами растения, для чего чашку с бактериями переворачивают вверх дном над чашкой с растительной кашицей. Экспозиция воздействия, в зависимости от целей эксперимента, от резистентности бактерий и т. п., может варьировать (рис. 18, Б).

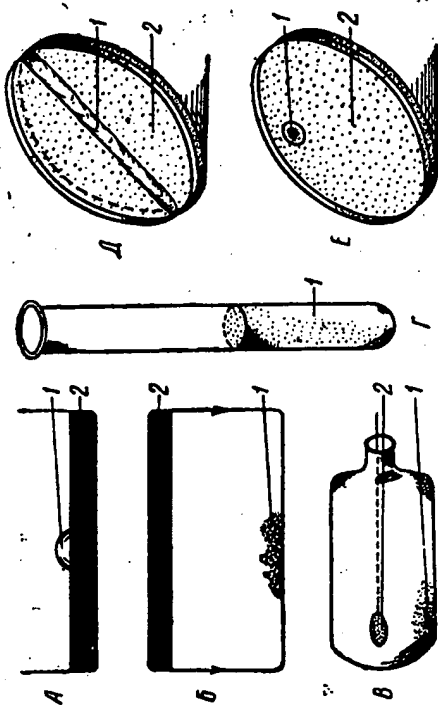


Рис. 18. Схема опытов с бактериями.

А — поверхность питательной среды с посевом бактерий (2); 1 — капля бактерицидного сока; Б — растительная кашица; 2 — поверхность питательной среды с бактериями; В — растительная кашица; 2 — пластиновая решетка с испытуемыми бактериями; Г — взвесь бактерий в бактерицидном соке; Д — фитонцидная «дорожка» на агаре; 2 — посев бактерий на агаре; Е — лунка в агаре, в которой помещена растительная кашица; 2 — посев бактерий на агаре

3. Материал для пересева в опытные колбы и пробирки держат в течение 5—8 минут на платиновой петле над парами фитонцидов, исходящими из только что приготовленной кашицы лука, чеснока или другого растения (рис. 18, В).

4. Приготовляют взвесь той или иной бактериальной культуры в соке исследуемого растения. Через определенные промежутки времени делают высев бактерий (рис. 18, Г).

5. На посеянную газонем агаровую поверхность наносят одну-две капли бактерицидного сока. Чашку ставят в наклонном положении. Вследствие стекания капли по диаметру образуются «растительная дорожка». Производят макро- и микроскопическое исследование как «дорожки», так и всей остальной поверхности агара в различные сроки содержания в термостате (рис. 18, Д).

6. На посеянной газонем агаровой среде в каком-либо месте чашки Петри делают лунку, в которую помещают небольшое количество растительной кашицы. Чашку закрывают и

проводят наблюдения за ростом бактериальной культуры в различных участках чашки (рис. 18, E).

7. Методом висячей капли исследуется действие летучих веществ растений на подвижные формы бактерий.

8. Е. Данин на основании работ в нашей лаборатории составила следующую весьма удачную инструкцию.

При поисках новых фитонцидоносителей можно использовать следующие методики.

1. Методика «колодца». Для обнаружения антибактериальных свойств испытуемого растения необходимо провести исследование с несколькими видами бактерий.

Чашки с питательным агаром засеваются 18-часовой бульонной культурой микроба. Для количественной оценки действия растительного материала засев чашек производят бактериальной эмульсией, содержащей в 0,1 мл примерно 500 микробных тел. Бактериальную взвесь готовят путем последовательных разведений бульонной культуры в физиологическом растворе. Это осуществляется следующим образом. Мерной однокубиковой пипеткой (концевой) набирают 0,5 мл бульонной культуры и переносят в пробирку, содержащую 4,5 мл физиологического раствора (первое разведение). Полученную бактериальную взвесь тщательно перемешивают путем нескольких вдуваний и выдуваний пипеткой. Затем из этой пробирки набирают 0,5 мл бульонной культуры и переносят в следующую пробирку с 4,5 мл физиологического раствора (2-е разведение) и т. д. до получения нужной концентрации. Каждое разведение производят отдельной пипеткой. Для суждения о степени разведения необходимо знать приблизительное содержание микробов в 1 мл 18-часовой бульонной культуры. Это достигается путем предварительного изучения роста испытуемого штамма в бульоне. Так, например, по данным нашей лаборатории, в 0,1 мл из 5-го разведения содержится в среднем 500—600 клеток золотистого стафилококка. Для получения такого же количества клеток *B. megatherium* приходится делать 4 разведения. Таким образом, в каждом отдельном случае приходится пользоваться различной степенью разведения в зависимости от интенсивности роста данного вида микроба.

Можно выращивать культуру на косом агаре. В этом случае бактериальный налет смыывают с поверхности скошенного агара стерильным физиологическим раствором. Исходную бактериальную эмульсию подводят к стандарту (например, в 1 мл содержится 1 млн. микробных тел). Затем взвесь определенной концентрации рядом последующих разведений в физиологическом растворе доводят до нужной концентрации. Чашки с питательным агаром засевают 0,1 мл разведенной 18-часовой культуры. В центре из засеянной среды вырезают при помощи сверла кружочек агара (диаметром, например, 10 мм), кото-

рый удаляют. В углубление помещают 0,5 г свежеприготовленной растительной кашицы.

Испытуемый растительный материал предварительно измельчают и растирают в фарфоровой ступке до состояния «кашицы». Всегда следует помнить, что некоторые растения при их обработке могут быстро отдать в окружающую среду значительную часть летучих бактерицидных веществ, поэтому рекомендуется готовить растительную «кашицу» как можно быстрее.

Чашки осторожно переворачивают, обертывают бумагой и ставят в термостат на сутки при температуре, оптимальной для роста испытуемого микроба. Контролем служат чашки, засеянные тем же количеством микробных тел, но без воздействия растительного агента.

Через сутки отмечают величину стерильной зоны в миллиметрах, подсчитывают количество выросших колоний и сравнивают его с контролем.

2. Метод стекающей капли. Питательный агар засевают 18-часовой культурой испытуемого микроба. Методика посева указана при описании метода «колодца».

На посев у края чашки из пипетки наносят одну или две капли испытуемого растительного фильтрата или сока (приготовление «тканевого» сока дано при описании контактного способа исследования).

Чашку осторожно наклоняют, и капля медленно стекает по поверхности агаровой пластинки. Чашки переворачивают и ставят на сутки в термостат при температуре, оптимальной для роста испытуемого микроба. О бактерицидности сока судят по величине стерильной зоны по обе стороны стекающей капли («дорожки»).

3. Методика количественной оценки активности фитонцидов. Для изучения действия летучих фитонцидов на бактерии можно применить следующий метод, позволяющий дать количественную оценку фитонцидной активности.

Чашки с питательным агаром засевают 18-часовой культурой.

После посева чашки, за исключением контрольных, подвергают обработке летучими фракциями фитонцидов. Обработку проводят при различных экспозициях в условиях термостата. Вначале лучше всего пользоваться длительной обработкой в течение 12—18 часов. Если при вышеуказанной экспозиции будет наблюдаться бактерицидный эффект, то следует подвергать обработке бактериальные посевы при более укороченных экспозициях (например 10 минут, 30 минут, 1 час, 2 часа и т. д.).

Одни грамм растительной кашицы распределяют тонким слоем на внутренней поверхности крышки чашки с посевом.

Во избежание влияния летучих фитонцидов на контрольные посевы и посевы, обрабатываемые фитонцидами других растений, а также на культуры бактерий при проведении опыта в термостате каждую чашку тщательно заворачивают в плотную бумагу. В таком виде чашки помещают в термостат при температуре, оптимальной для роста тест-объекта. По истечении определенного времени растительную массу удаляют вместе с крышкой, которую заменяют новой. Через сутки производят первый просмотр чашек и в протоколе регистрируют количество выросших колоний, обращая внимание на их характер. Наблюдения за чашками ведут в течение 5 суток. Если следующее растение обладает бактерицидным действием по отношению к испытуемому штамму и чашки сохраняют стерильность в течение всего срока наблюдений, то с целью контроля следует делать последующий высев с стерильной поверхности питательного субстрата.

4. Контактный метод. При определении фитонцидной активности «тканевого» сока или водного извлечения из растений можно пользоваться «контактным методом».

«Тканевый сок» получают следующим образом. Испытуемое растение измельчают сначала на овощной терке (если это возможно), а затем в фарфоровой ступке до состояния кашицы. Кашицу отжимают через два слоя марли. Полученный сок пропускают через фильтр Зейтца при вакууме. Таким способом получают соки «соеных» растений. Из растений, для которых этот способ не дает положительного результата, готовят водные извлечения.

Водные извлечения могут быть получены различными приемами. В качестве примера опишем один из них. Растительную кашицу заливают дистиллированной водой в отношении 1:1 и оставляют на сутки при комнатной температуре. На следующий день кашицу отжимают через марлю и полученную жидкость пропускают через фильтр Зейтца при вакууме. В некоторых случаях больший эффект достигается автоклавированием. В последнем случае растительный материал заливают дистиллированной водой и подвергают автоклавированию в течение получаса при давлении 0,5 атмосферы. По охлаждению его отжимают через марлю и фильтруют через фильтр Зейтца.

Вначале мы советуем испытать действие естественных соков или концентрированных водных извлечений без предварительного их разведения.

В стерильную пробирку наливают с соблюдением правил асептики 5 мл испытуемого сока или водного извлечения и засевают одной каплей бактериальной эмульсии, содержащей в 1 мл 2 млрд. микробных тел (по оптическому стандарту).

В качестве тест-объекта берется чувствительный к испытуемым сокам штамм микробов. Чувствительный штамм может

быть выбран путем предварительного исследования сока со многими видами бактерий методом стекающей капли.

Пробирка с 5 мл физиологического раствора, засеянная тем же количеством микробной взвеси, служит контролем. Пробирки в течение всего опыта сохраняются в термостате при оптимальной для роста испытуемых микроорганизмов температуре. Через определенные интервалы (тогда же, через 1 час, 2, 3, 4, 5 и 24 часа) из пробирок делают высев по 0,05 мл на чашки с питательным агаром. После 24-часового инкубирования считают результат (подсчет выросших колоний на чашках и изучение морфологии колоний).

После того как антибактериальное действие «тканевого сока» или водного извлечения обнаружено, активность его может быть определена путем разведения испытуемой жидкости по так называемому методу разведений.

Разведение сока или водного извлечения производят в стерильных пробирках в определенном объеме. Разведения могут быть следующего порядка: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 и т. д.

Пробирки с различными разведениями засевают стандартной каплей 18-часовой культуры испытуемого микроба. Разведение исследуемой жидкости проводят в бульоне. Контролем служат пробирка с нативным соком или водным извлечением исходной концентрации и пробирка с бульоном. Объем жидкости в исследуемых и контрольных пробирках должен быть одинаковым.

Пробирки помещают в термостат на 5 часов при оптимальной для роста микроба температуре и по истечении срока инкубации производят высев по 0,05 мл на чашки с агаром. Чашки с посевами помещают в термостат. На следующий день считают результат. Наибольшее разведение сока, при котором отсутствует рост микроба, и будет указывать степень активности испытуемых «тканевых» соков или водных извлечений.

Все приведенные способы изучения антибактериальных свойств высших растений удовлетворительны для обнаружения новых фитонцидоносителей.

Круг высших растений, бактерицидные свойства которых в той или иной степени изучены, достаточно широк. Напомним лишь исследования непосредственно микробиологического характера. К настоящему времени бактерицидные свойства обнаружены у различных, далеко отстоящих друг от друга видов растений. Приводим перечень этих растений с указанием исследовавших их авторов: 1) алоэ (различные авторы), 2) апельсин (Корабельников и Гиммельфарб), 3) береза (различные авторы), 4) василистники (Сацыперова), 5) ветреницы и

другие лютиковые (Сащперова), 6) горчица (Филагова), 7) дуб (Данини и Граменицкая), 8) картофель (Вагнер), 9) каштан водяной (Chen S., Chen B., Chen W., Tang P.), 10) кедровая сосна (Филагова), 11) копытень канадский (Кавалито и Бейли), 12) крапива (различные авторы), 13) кровохлебка (Плахова, Гофштадт), 14) кукуруза (Бенины), 15) лавровишня (Данини и Граменицкая), 16) лимон (Данини и Граменицкая), 17) ломонос (Плахова), 18) лук (Филагова, Токин и многие другие авторы), 19) мандарин (Данини и Граменицкая), 20) можжевельник (различные авторы), 21) морковь (Аронов, Якобсон), 22) пион дикий (Плахова), 23) перец красный (Филагова), 24) пихта (Витефт и др.), 25) помидор (Карабельников и Гиммельфарб), 26) прострел крупный (Бэр), 27) прострелы (Сащперова), 28) редька (Токин), 29) репей (Кавалито, Бейли и Кирхнер), 30) свекла сахарная (Вагнер), 31) скерда одуванчиколистная (Хитли), 32) сосна (Данини и др.), 33) таволга (Плахова), 34) хрен (Токин), 35) чеснок (Филагова, Токин и многие другие авторы), 36) черемуха (Данини и Граменицкая) и многие другие растения (различные авторы).

В наши дни очень быстро увеличивается число исследований бактерицидности «тканевых соков» высших растений. Появились исследования и за рубежом. Приведем примеры: Аткинсон (Atkinson) и Кайнсфорд (Kainsford)¹ в 1946 г. сообщили, что они испытывали листья, цветы и корни 450 высших растений, из которых 410 принадлежат к корневым австралийским растениям. Безусловный бактерицидный эффект дали 38 растений, главным образом из семейства *Scutiferae*, *Mutaceae* и *Roseae*. Листья, стебли и цветы, а иногда семена и корни помещали в небольшое количество воды; водный настой испытывали на *Staphylococcus aureus* и *S. typhi*.

Оборн² сообщил об исследовании им более 2000 видов растений. Он обнаружил антибиотические свойства у представителей 63 родов, принадлежащих к 28 семействам. Особенно мощные бактерицидные начала по отношению к *Staphylococcus aureus* и *E. coli* содержит сок из плодов *Magnolia acuminata*. Этот автор исследовал бактерицидные свойства всех растений только по отношению к названным бактериям.

Когда мы цитируем иностранных авторов, занятых в настоящее время изучением бактерицидности соков высших растений, мы все время должны иметь в виду, что данные этих авторов, при всей вероятной безупречности их экспериментов, могут не отражать действительной картины. Эти авторы не ушли много существенные детали, подчас решающие успех эксперимента. Так, например, совершенно небезразлично, сколько времени

¹ Aust. Journ. of exper. biol. a. med. science, March 1946, v. XXIV.

² Chronica botanica, 1945, v. IX, No 1/2.

проходит с момента срывания растения до эксперимента, ибо из наших опытов, как мы уже видели, совершенно ясно, что некоторые фракции фитонцидов необычайно летучи и при медлительности работы экспериментатора могут ускользнуть из его поля зрения.

Все цитированные авторы не исследовали летучих фракций фитонцидов. Приходится принимать в расчет и многие другие соображения. Кажущиеся весьма совершенными аналитические методы работы химиков для нашей проблемы подчас оказываются весьма грубыми. Так, несомненно, что наиболее ценные фракции бактерицидных летучих веществ, выделяемые в первые минуты и секунды после приготовления растительной кашицы, оказываются не определимыми для химика-аналитика.

В связи с исключительным вниманием, которое уделяют в последние годы антисептикам, полученным из плесневых грибов (пенициллин и др.) и из почвенных бактерий (грамцидин и др.), появилось огромное количество работ, посвященных бактерицидным свойствам низших растений и бактерий. Медицина возвратилась в своих поисках к мыслям, высказанным еще И. Мечниковым: «По всему нужно думать, что во внешней природе и в человеческом организме распространены микробы, оказывающие наибольшую пользу в борьбе против заразных болезней». Он говорил об исследовании «благодетельных» бактерий, оберегающих нас от болезнетворных.

Как известно, Пастер в 1877 г. обнаружил, что при культивировании сибиреязвенных микробов свойства последних изменяются, если в культуру оказываются другие бактерии. Пастер тогда уже думал о возможности использовать некоторые бактерии для лечебных целей. Некоторые авторы «забывают» роль основную науки об «антибиотиках» и ведут ее от работ Флемминга (Flemming) об антагонистических отношениях между *Penicillium notatum* и бактериями, а также со времени открытия Дюбо (Dubos R.) и Флори (Flury F.) антагонистических веществ, образуемых почвенными бактериями и плесневыми грибами.

Для нас совершенно ясно, что, начиная с 1934 г., ряд отечественных исследователей выполнил прекрасные работы по изучению антагонистических взаимоотношений между бактериями и другими низшими растениями. Сошлемся, например, на исследование Нахимовской «Антагонизм между актиномицетами и почвенными бактериями» (1937). Ею одной исследовано 80 штаммов актиномицетов и у 47 обнаружен антагонизм в отношении почвенных бактерий. Нахимовская установила, что актиномицеты не бактерицидны по отношению к грамотрицательным бактериям, и изучила морфологические изменения бактериальных клеток при действии на них антагонистов. Это исследование, как и ряд других работ отечественных авторов, проведено в широком биологическом аспекте. Выдающиеся ра-

боты по антагонизму в мире микробов проведены известной школой Б. Л. Исаченко.

Особенно мы должны отметить яркие работы Н. А. Красилюкова и его сотрудников, на которых мы еще специально остановимся в заключительной главе.

Н. А. Красилюков недооценивает собственные работы и уменьшает значение работ других советских ученых. Так в очень интересной своей книге «Антиомидеты — антагонисты и антибиотические вещества» (1950) Н. Красилюков, ни разу не упомянув фитонциды, делает странное утверждение: «Это лишь после получения пенициллина начали искать «антибиотики» высших растений».

Большой вклад внес микробиолог и физиолог растений Д. М. Новогрудский, который дал ряд прекрасных работ по вопросу о бактерицидных и фунгицидных веществах, выделяемых низшими растениями — актиномицетами, низшими грибами и бактериями. Он же дал в 1936 г. обзорные статьи по этому вопросу¹. Более того, в его лаборатории проведены изыскательные работы по использованию бактерицидных веществ, выделяемых низшими растениями, для борьбы с патогенными микробами, вызывающими заболевания культурных растений.

Воспользуемся работами Новогрудского и его сотрудников, чтобы дать небольшие иллюстрации, которые показали бы чистоту, что уже к 1936 г. вскрыты закономерности антагонизма в мире микробов и доказано выделение бактериями и грибами во внешнюю среду бактерицидных и фунгицидных начал. Вот сводка, конечно, теперь устаревшая, составленная по данным различных авторов (табл. 16).

Уже одной этой таблицы достаточно, чтобы убедиться, что вопрос о бактерицидных началах, выделяемых самими бактериями, не нов.

Вопрос об антагонизме в мире бактерий давно интересовал русскую и мировую науку. Мечниковская теория старения организма и рекомендуемые им способы борьбы с преждевременной старостью были связаны с идеями об антагонизме микробов. Мечников и экспериментально разрабатывал вопросы, относящиеся к проблеме взаимоотношения микробов. Так, беря содержимое желудка, он выращивал бактерии, которые, будучи присоединены к холерным вибрионам, благоприятно влияли на рост последних; другие же бактерии, которых он извлекал из кишечника морских свинок, оказывались «задерживающими».

Габричевский и Малютин, а также Благовещенский (1890) исследовали отношения между холерным вибрионом и кишечной палочкой, между тифозной и синегнойной палочками.

¹ Д. М. Новогрудский. Антагонистические взаимоотношения у микробов и биологические методы борьбы с грибковыми заболеваниями культурных растений. Успехи совр. биол., 1936, т. V, в. 3.

Антагонизм бактерий

Антагонист	Угнетение	Лизис
B. abortus (R)	B. abortus (S) B. anthracis B. acidilactici Staphylococcus pyogenes albus, Vibrio cholerae aviae Vibrio Finkler-Prior Vibrio cholerae asiaticae	
B. anthracis		B. diphteriae B. anthracis B. dysenteriae Shiga B. proteus S. paratyphi S. typhi Staphylococcus Streptococcus B. dysenteriae Shiga B. dysenteriae Flexner Vibrio cholerae B. anthracis
E. coli		
B. dysenteriae		
B. dysenteriae Shiga (R)	B. dysenteriae Shiga B. anthracis S. typhi Staphylococcus pyogenes albus Vibrio cholerae	
B. fluorescens putidum		
B. mesentericus		Vibrio cholerae
B. mycoides		Staphylococcus E. coli V. cholerae B. proteus M. tuberculosis S. typhi
S. paratyphi		B. dysenteriae Shiga B. dysenteriae Flexner S. typhi Staphylococcus
S. paratyphi B. prodigiosum	S. paratyphi (S) B. anthracis (S)	
	Staphylococcus pyogenes albus Vibrio cholerae aviae Vibrio cholerae Vibrio Finkler-Prior	

Антагонист	Угнетение	Лизис
<i>M. pseudotuberculosis</i>	<i>B. anthracis</i> <i>S. typhi</i> <i>E. coli</i> <i>B. diptheriae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>B. anthracis</i> <i>B. diptheriae</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>S. typhi</i> <i>Vibrio metschnikovi</i> <i>Meningococcus</i> <i>Pneumobacillus</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>
<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Vibrio cholerae aviae</i>	
<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Vibrio cholerae asiaticae</i>	
<i>B. subtilis</i> <i>Diplococcus pneumo-</i> <i>niae</i>	<i>B. cholerae</i> <i>B. anthracis</i>	<i>Vibrio Finkler-Prior</i> <i>M. tuberculosis</i>
<i>Micrococcus (Diplo-</i> <i>coccus tetragenus)</i>		<i>E. coli</i> <i>S. typhi</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio cholerae aviae</i> <i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>S. typhi</i> <i>B. anthracis</i> <i>E. coli</i> <i>B. dysenteriae Flexner</i> <i>B. dysenteriae Shiga</i> <i>S. paratyphi B</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Diplococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus</i> <i>E. coli</i>
<i>Diplococcus pneumo-</i> <i>niae</i>	<i>B. anthracis</i> <i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>genes citreus</i>	
<i>Vibrio cholerae aviae</i>	<i>Vibrio cholerae asiaticae</i> <i>Vibrio Finkler-Prior</i> <i>B. anthracis</i>	

Антагонист	Угнетение	Лизис
<i>Vibrio cholerae asia-</i> <i>ticae</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>S. typhi</i> <i>B. anthracis</i> <i>B. acidi lactici</i> <i>V. cholerae aviae</i> <i>V. Finkler-Prior</i>	<i>B. anthracis</i> <i>E. coli</i>

Благовещенский исследовал взаимоотношения бацилл сибирской язвы и синегнойной палочки.

Еще в конце прошлого столетия и в начале текущего не только были зарегистрированы в экспериментах *in vitro* и *in vivo* многие факты антагонизма в мире микробов, но и делались попытки изучить причины этих явлений: происходит ли истощение питательной среды, происходит ли выделение в среду каких-либо токсических для других бактерий продуктов обмена, изучалось значение концентрации угольной кислоты и т. п. В связи с этим можно напомнить, например, работы Сироткина в начале нашего столетия. Представляет интерес опубликованная в 1906 г. диссертация Р. М. Эбнуса на степень доктора медицины в Юрьевском университете «О так называемом антагонизме между бактериями».

С 30-х годов текущего столетия, как было указано, ряд отечественных авторов занимается в очень широком биологическом плане вопросами антагонизма в мире микробов. Считаю не лишним привести составленные Д. М. Новогрудским, по данным ряда авторов, еще в 1936 г. таблицы грибов-антагонистов (табл. 17), а также антагонистов бактерий и низших грибов (табл. 18).

Мы не имеем возможности останавливаться здесь подробно на прекрасных экспериментальных работах Новогрудского, в которых автор не только считает бесспорным выделение бактерицидных и противогрибковых начал различными микроорганизмами, но в лабораторных и «полевых» опытах пытается поставить некоторые почвенные микроорганизмы против патогенных для культурных растений микробов. Автор ставит задачи: использовать явление антагонизма для частичного регулирования почвенной микрофлоры, при помощи одних мик-

Антагонизм между грибами
(иллюстрация из сводки Новогрудского, 1936 г.)

Название гриба	Грибки, рост и жизнь которых он подавляет
<i>Aspergillus niger</i> <i>Helminthosporium teres</i>	<i>Peziza sclerotiorum</i> , <i>Peziza trifoliorum</i> , <i>Peziza tuberosa</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> <i>Fusarium coeruleum</i> , <i>Cytosporium ribis</i> , <i>Acrostalagus cinnabarinus</i> , <i>Strigmatocystis</i> , <i>Ustilago violacea</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Helminthosporium sativum</i> , <i>Fusarium lini</i> , <i>Acrothecium Penicillium</i> <i>Peziza sclerotiorum</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Peziza trifoliorum</i> , <i>Peziza tuberosa</i> <i>Mucor racemosus</i> , <i>Phycomyces nitens</i> , <i>Mucor mucedo</i> , <i>Mucor stolonifer</i> , <i>Acrostalagus cinnabarinus</i> , <i>Trichotecium roseum</i> , <i>Dematium pullulans</i> , <i>Fumago salicina</i> , <i>Peziza tuberosa</i> , <i>Peziza trifoliorum</i>
<i>Penicillium glaucum</i> <i>Peziza sclerotiorum</i>	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus aureus</i> , <i>Aspergillus awamori</i> , <i>Aspergillus oniki</i> , <i>Aspergillus giganteus</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Aspergillus soya</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus gymnosporae</i> , <i>Monascus purpureus</i> , <i>Rhizopus nigricans</i>
<i>Torula suganii</i>	

робов полностью или частично устранить из почвы другие микробы, оградить культурные растения от их вредного действия.

В лаборатории Новогрудского проведены опыты по использованию бактерий для борьбы с грибковыми заболеваниями пшеницы (Худяков). Брали сильно вирулентный штамм *Fusarium graminearum*, поражающий пшеницу в почву вносили этот грибок и его антагонист — бактерию. Сущность различных экспериментов и результаты их видны из табл. 19, которую мы заимствуем из упомянутой работы Новогрудского.

И другие авторы пытались использовать антагонизм в мире микробов. Так, Кизлинг (Kiesling, 1933) сообщил об удачных полевых опытах использования бактерий для предохранения картофеля от парши, вызываемой *Actinomyces scabies*. Если вносили в почву, предназначенную для картофеля и зараженную *Actinomyces scabies*, антагонистов-бактерий, клубни были почти свободны от парши. Уайдлинг (Weidling) ставил опыты по использованию грибка *Trichoderma lignorum* для борьбы с *Rhizoctonia* — возбудителем болезни проростков пшеницы («damping off»). В 1935 г. Аллен и Хенселер (Allen и Henseler) использовали в опытах *Trichoderma lignorum* в целях

Антагонизм между бактериями и грибами
(из работы Новогрудского)

Название бактерий	Грибки, которые она угнетает
<i>Achromobacter</i> sp.	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium scirpi</i> <i>Fusarium lini</i> <i>Fusarium herbarum</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Sclerotinia Libertiana</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Ustilago zeae</i> <i>Ustilago levis</i> <i>Ustilago avenae</i> <i>Penicillium</i> sp. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Basiporia gallarum</i> <i>Sclerotium Rolfsii</i> <i>Glomerella cingulata</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Beauveria bassiana</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Ophiobolus graminis</i> <i>Actinomyces</i> <i>Acrostalagus cinnabarinus</i> <i>Fusarium coeruleum</i> <i>Fusarium lini</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Sclerotinia Libertiana</i> <i>Zygorhynchus</i> <i>Gleosporeum piperatum</i> <i>Alternaria crassa</i> <i>Ustilago zeae</i> <i>Ustilago avenae</i> <i>Alternaria solani</i> <i>Alternaria brassicae</i> <i>Alternaria tenuis</i> <i>Helminthosporium teres</i> <i>Ophiobolus graminis</i>
<i>Bacillus</i> „D“	<i>Ustilago avenae</i> <i>Ustilago zeae</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium discolor</i> <i>Fusarium sulphureum</i> <i>Dothiorella gregaris</i>
<i>B. anthracis</i> <i>B. capsulatus</i> <i>B. mesentericus</i> <i>B. vulgaris</i>	
<i>B. mycoides</i> <i>B. prodigiosus</i> <i>Pa. aeruginosa</i> <i>B. vulgaris</i> <i>Bacterium</i> „45“	
<i>B. „C-1“</i>	
<i>B. „X“</i>	
<i>B. alealigenes</i> <i>B. translucens</i> <i>B. undulosum</i> <i>Muzobacterium „I“</i> <i>Pseudomonas phaseoli</i> <i>Pseudomonas juglandis</i>	

Таблица 19

Опыт использования бактерий в борьбе с грибовыми заболеваниями на пшенице (по Новогрудскому)

№ со- су- да	Способ заражения почвы	Растения	
		здоровые	больные
1	Без фузариума, без бактерий	10	0
2	Заражение одним лишь фузариумом	0	10
3	Бактерии внесены за 1 день до фу- зариума	9	1
4	Бактерии внесены одновременно с фузариумом	5	5
5	Бактерии внесены на 1 день позже фузариума	0	10

профилактики заболевания огурцов и гороха, вызываемого Rhizoctonia.

В последние годы в связи с успехами пенициллина во многих странах происходят поиски бактерицидных начал низших растений.

Для того чтобы дать хоть некоторое представление о размахе работ в последние годы по изучению бактерицидных свойств низших растений, приведем далеко не полный перечень бактерицидных препаратов, полученных со специальной практической медицинской целью.

Заместуем из работ Красильникова, Гаузе и других авторов соответствующие, конечно, уже устаревшие, материалы (табл. 20).

Таким образом, и в области низших растений, как и в области высших, мы стоим перед фактом исключительной распространённости обнаруженного в растительной природе явления фитонцидов.

Красильников, Кореняко, Нахимовская, Таусон и др. в 1947 г. изучили более 5000 культур актиномицетов. Около 40% из них оказались антагонистами. У видов *Aspergillus violaceus*, *Aspergillus griseus* и др. число штаммов с обнаруженными фитонцидными свойствами достигает 60%. Как указывает в своих работах Красильников, среди исследованных Хеттчем и Вебером (1939) спороносных бактерий количество антагонистов составляло около 40%, а по его данным — около 30%. Из плесневых грибов два рода — *Aspergillus* и *Penicillium* — оказались особенно богаты антагонистами: от 20 до 30%. При изложении этих данных приходится учитывать, что применявшаяся методика обнаружения фитонцидных свойств того или иного низшего растения далеко не всегда гаранти-

Характеристика бактерицидных, бактериостатических или противогрибковых свойств низших растений

[illegible]

рвала точный ответ (см. об этом в заключении). Весьма обосновано предположение о том, что в природных условиях и при соответствующих условиях культивирования бактерий, грибов и актиномицетов всегда происходит выделение во внешнюю среду фитонцидных веществ.

Нет сомнений в том, что к моменту выхода этой книги речь о низших организмах, выделяющих фитонциды, окажется устаревшим: буквально каждый новый месяц приносит новые сообщения в данной области. В наши дни большой интерес проявляется в частности, к одноклеточным водорослям. Многочисленные работы (Пратт, Даниэльс и др.) посвящены хлорелле — бактерицидному веществу, продуцируемому во внешнюю среду водорослью *Chlorella vulgaris* Beugetinck¹.

Для суждения о том, сколь универсально явление фитонцидов в природе, представляют интерес и работы последних лет с высшими грибами. Немногочисленные опыты нашей лаборатории по изучению грибов на существование у них летучих фракций фитонцидов не увенчались успехом, но придавать им решающего значения нельзя, — необходимы новые исследования. К этому обязывают успешные работы, выполненные в последние годы как советскими, так и зарубежными авторами, исследовавшими «тканевые соки» высших грибов.

Из работ советских исследователей обращает на себя внимание работа Василькова, Мулярчика и Солькиной. Ими испытано 79 видов высших грибов в виде плодовых тел и 4 в виде грибницы. Объектами воздействия были *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. typhi*, *S. paratyphi* A и B, *B. dysenteriae* Hiss Shiga. Грибы собирали в окрестностях Ленинграда.

Техника опытов с плодовыми телами грибов была такова. Испытывали свежерастертую массу из плодового тела. В мясном агаре, на котором взращивались бактерии, вырезали ямки и заполняли их массой из растертого плодового тела. Предполагалось, что «сок», пропитывая агар, будет проводить в окружающей ямки антибактериальное действие, и исследователь обнаружит стерильную зону после пребывания чашек соответствующее время в термостате. Четыре гриба испытывали в виде чистой культуры на агаре. Как видно из приводимой авторами таблицы, явное антибактериальное действие по отношению ко всем исследованным бактериям или к тем или иным формам обнаружено у 33 видов, в том числе у 3 видов (из четырех) грибов-древоразрушителей. Кроме того, у 7 видов грибов обнаружено слабое бактерицидное действие на те или иные бактерии. У всех 4 видов *Ascomycetes* обнаружено энергичное бактерицидное действие по отношению ко всем исследованным бактериям за исключением одного вида, не действовавшего на бродячатофизную и на кишечную палочку.

¹ Science, 1944, v. 59, 2574.

Из базидиальных грибов, испытанных в виде чистой культуры, наиболее активными, по сообщению авторов, оказались *Kadulium tembraseum* и *Fomes marginatus*, а среди испытанных в виде плодовых тел — *Hydnum fuligineolum*, *Palyrobus sulfureus*, *Clitocybe rivulosa*, *Cortinarius* sp., *Paxillus raioides*, *Marasmius perfolians*.

Нас заинтересовали некоторые детали этого исследования. Так, в согласии с нашими данными, полученными при испытании на протозоа, авторы не обнаружили антибактериального действия некоторых съедобных грибов, например *Lactarius vicius* и *Lactarius torminosus*, а также и ядовитого красного мухомора.

Очень интересно, что гриб *Fomes marginatus* при испытании в культуре оказался бактерицидным (выделял во внешнюю среду антибактериальные начала), а испытание «сока» его плодового тела не дало положительного результата.

Авторы приводят данные исследователей других стран. Из этих данных я остановлюсь на работах Вилкинса и Гарриса¹ (цит. по Василькову, Мулярчику и Солькиной). Они испытали действие отжатого из плодовых тел сока более чем 700 видов грибов на *Staphylococcus aureus*, *E. coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Каплю сока помещали в ямку агаровой пластинки, на которой делался посев бактерий. Авторы отмечают особо 50 видов грибов, оказавшихся наиболее бактерицидными.

Как видно, исследования, проведенные на высших грибах отечественными и зарубежными авторами, дают дополнительный важный материал, говорящий об универсальности явления фитонцидов в природе. Я должен отметить, что техника опытов многих исследователей не является совершенной. Эта техника (помещение в ямку агаровой пластинки соков растений или кашицы из растений), применяемая нередко и в нашей лаборатории, дает положительные результаты не во всех случаях. При получении отрицательных результатов всегда встает вопрос: не происходит ли какого-либо видоизменения антибактериальных веществ при диффузии их в агаровую пластинку?

В работах различных авторов с высшими грибами остается неясным очень важный вопрос: сколь скоро экспериментаторы испытывали соки или кашицу растения после их приготовления? Из того обстоятельства, что многие авторы не придают этому значения, я склонен сделать вывод, что опыты с высшими грибами при иной постановке могли бы дать еще более интересные результаты.

Васильков, Мулярчик и Солькина, излагая данные Вилкинса и Гарриса, делают совершенно справедливое замечание о недостатке техники их опытов. Сок многих грибов пересылался

¹ Wilkins W. N. & Harris G. C. M., Ann. appl. Biol., 1944, 31, 4; 1943, 3; Nature, 1944, 154.

по почте из разных мест Англии (II). Конечно, этот сок мог подвергнуться очень большим химическим изменениям, прежде чем был испытан на бактериях. Достаточно указать, что мы не получили бы положительных результатов воздействия фитонцидами лука, если бы луковая кашица пересылалась по почте.

В иных случаях практиковалось испытание засушенных плодовых тел. По данным Василькова, Мулярич и Солькиной, многие грибы после высушивания теряют или снижают свои бактерицидные свойства.

Особенно тщательно изучены бактерицидные свойства обычных пищевых растений — лука и чеснока. Выяснено, что фитонциды этих растений обладают бактерицидными и бактериостатическими свойствами по отношению к ряду бактерий.

Приведем данные о чесноке. Фитонциды этого растения бактерицидны или бактериостатичны для следующих микробов: туберкулезной палочки штамма BCG и вирулентных штаммов человеческого и бычьего типов, *E. coli*, *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *B. dysenteriae* Shiga, *B. dysenteriae* Flexner, *B. dysenteriae* Hiss, *B. proteus*, *S. Schöttmüller*, *Sarcina*, *B. diptheriae* Park, *B. diptheriae* gravis, *B. diptheriae* intermed., *B. diptheriae* mitis, *B. tularensis*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Diplococcus*, *B. subtilis*, *B. perfringens*, *Ps. aeruginosa*, *S. enteritidis* (Gaertner), *Vibrio cholerae asiatica*, *Vibrio El* — Tor., *Vibrio metschnikovi*, *Vibrio fluorescens*, *Vibrio Finkler-Prior*.

Опишем подробнее результаты некоторых исследований. Это поможет нам создать представление о мощности бактерицидного действия фитонцидов и дать ориентировку врачу в возможных клинических исследованиях. Само собой разумеется, что в книге могут быть даны лишь отдельные иллюстрации исследований бактерицидных свойств фитонцидов высших растений, которые в последние годы получили в СССР широкий размах, особенно в связи с потребностями медицины.

А. Исследования А. Филатовой

В дальнейшем изложении мы не будем придерживаться хронологического порядка исследования бактерицидности фитонцидов, однако я должен прежде всего напомнить о первоначальной работе в этой области, об основных фактах, полученных в 1931—1936 гг. А. Филатовой. Она, бесспорно, пионер в исследовании бактерицидных свойств фитонцидов.

Филатова исследовала действие свежего сока лука на *Staphylococcus albus* и *Sarcina*.

Постановка опыта. Две капли миллиардной взвеси стафилококка помещают на дно стерильной чашки Петри, к ним приливают 10—15 капель только что отжатого сока лука и заливают агаром. Приготовленный таким образом посев по-

мещают в термостат при температуре 36—38° и ежедневно наблюдают рост бактерий. В качестве контроля служит такой же посев, но без прибавления сока лука. Аналогичные опыты проведены с сарциной. Со стафилококком поставлено 29 опытов, из них 27 дали положительный результат: в ряде случаев слабый рост по сравнению с пыльным, хорошим контролем, а в некоторых случаях даже полное отсутствие роста. Из 10 опытов с сарциной в 6 наблюдался положительный результат.

Результаты непосредственного воздействия сока лука

№ опыта	На сарцину	№ опыта	На стафилококк
1	{	Контроль	{
		185	
	{	Опыт	
		25	
	{	Контроль	{
		1	
	{	Опыт	
		2	
		130 колоний	
		Стерильный	
		22 колонии	
		3	

В следующей серии опытов выяснялось бактерицидное действие летучих фракций фитонцидов на стафилококки и сарцину.

На дно чашки Петри помещают 2 капли миллиардной взвеси стафилококка или сарцины, к ним прибавляют агар и чашку закрывают. Берут другую чашку Петри, на дне которой находится только что измельченный лук. Чашку помещают в эксикатор, причем на нее кладут две стеклянные палочки, на которые и помещают приготовленный посев (открытая чашка вверх дном); эксикатор закрывают. Через 10 минут посев вынимают, чашку закрывают и ставят в термостат, после чего ведут ежедневное наблюдение за ростом бактерий. Контрольные посевы готовят так же, как и опытные, но не помещают в эксикатор. Вместе с опытными их ставят в термостат при температуре 36—38°.

Всего было поставлено 40 опытов. В 24 случаях получен безусловно положительный результат, в 9 случаях наблюдался одинаковый рост в опытных и контрольных чашках и в 7 случаях рост в опытных чашках обогнал контроль.

Влияние фитонцидов чеснока на *Staphylococcus* и *Sarcina*. Изучалось непосредственное действие сока чеснока на те же бактерии. Техника опытов та же, что и при изучении непосредственного воздействия сока лука на бактерии. Все 8 опытов, проведенные на стафилококке, дали положительные результаты: при обычном хорошем росте в контрольных посевах опытные посевы не дали никакого роста. Опыты с сарциной дали такие же результаты.

Были поставлены опыты по изучению действия летучих фракций фитонцида чеснока на те же самых бактерий. Тех-

ника опытов та же, что и при изучении действия летучих фракций лука. Из 11 опытов со стафилококком 6 дали ясно положительный эффект, в 1 опыте наблюдался одинаковый рост с контролем, и в 4 опытах рост посевов обогнал контроль. Из 11 опытов с сарциной 8 дали отчетливо положительный результат, в 1 опыте получен одинаковый рост с контролем и в 2 опытах — более сильный рост, нежели в контроле.

Влияние паров аллил-горчичного масла на *Staphylococcus* и *Sarcina*. Техника в этой серии опытов ничем не отличалась от предыдущей. Горчицу приготавливали следующим образом: небольшое количество сухой горчицы тщательно размешивали в небольшом количестве теплой воды. Бактериальные культуры обрабатывали летучими веществами горчицы.

Результаты получены следующие. Из 20 поставленных со стафилококком опытов 14 дали ясно положительный результат, в одном опыте — рост, одинаковый с контролем, и в 5 опытах исследуемый материал обогнал контроль. Из 21 опыта с сарциной в 15 автор наблюдал положительный результат.

А. Филатова получила положительный результат и в опытах с палочкой брюшного тифа при действии летучих фракций фитонцида лука. Из 18 опытов 13 дали совершенно отчетливый положительный результат. В табл. 21 дан общий итог опытов.

Таблица 21

Действие соком			Действие парами		
растение	всего опытов	число положительных результатов (в %)	растение	всего опытов	число положительных результатов (в %)
Лук	29	93	Лук	40	60
Чеснок	8	100	Чеснок	11	55
			Горчица	20	70

Влияние фитонцидов на стафилококки

Лук	29	93	Лук	40	60
Чеснок	8	100	Чеснок	11	55
			Горчица	20	70

Влияние фитонцидов на сарцину

Лук	10	60	Чеснок	11	73
Чеснок	5	100	Горчица	21	71

Результаты опытов А. Филатовой убеждают в том, что фитонциды лука и чеснока обладают весьма мощными стерилизующими свойствами.

Возникает вопрос: действуют ли фитонциды на питательную среду, делая ее негодной для роста бактерий, или они действу-

ют непосредственно на бактерии? Для разрешения этого вопроса были поставлены опыты. В чашку Петри наливали 2 капли миллиардной взвеси стафилококка и 15—20 капель только что приготовленного сока лука, в другую чашку Петри—2 капли миллиардной взвеси стафилококка и 15—20 капель физиологического раствора. Через 15 минут из первой чашки набирали в пипетку взвесь и разливали по 1 капле в приготовленные опытные чашки. Аналогичный посев делали из второй чашки Петри, которая служила контролем. Как опытные, так и контрольные чашки заливали агаром, ставили в термостат при температуре 36—38° и вели ежедневное наблюдение за ростом.

Результаты этой серии опытов таковы. Из 64 проведенных опытов в 46 при прекрасном росте контрольных посевов наблюдался совершенно незначительный рост опытных. Аналогичные опыты с фитонцидом чеснока дали те же результаты: из 26 опытов в 23 автор наблюдал отчетливый положительный результат. Таким образом, нет сомнений, что фитонциды действуют непосредственно на бактерии.

Были поставлены опыты и несколько иного характера. В опытные чашки Петри приливали по 10—15 капель только что приготовленного сока лука и агар-агара, в контрольные — лишь агар-агар. Опытные и контрольные чашки ставили в термостат на 1—2 дня, после чего их вынимали и на поверхность агара каждой чашки наносили по 1 капле миллиардной взвеси стафилококка (посев штрихом). Опытные и контрольные посевы ставили в термостат при 36—38° и вели ежедневные наблюдения. Всего проведено 30 опытов. В ряде случаев в опытных посевах рост оказался даже лучше, чем в контроле, а в ряде случаев — одинаковым с контролем. Трудно истолковать детали результатов, ясно лишь, что если бы действие фитонцидов объяснялось только изменением среды, а не непосредственным влиянием на бактерии, результаты опытов не подавались бы анализу.

В следующей серии опытов, проведенных с той же техникой, испробовано действие сока чеснока. Поставлено 10 опытов. Результаты оказались совершенно иными: при пышном росте контрольных посевов автор или совсем не наблюдал роста в опытных или наблюдал лишь слабый рост. Это исследование проведено 15 лет назад, и полученные результаты были нам совершенно непонятны. Они заставляли предполагать возможность действия фитонцидов чеснока не только непосредственно на бактерии, но и на питательную среду, вследствие чего она становилась не пригодной для роста бактерий. Однако в настоящее время в свете исследований И. Камнева, Р. Петровой, И. Торопцева и др. вряд ли остается место для каких-либо сомнений: дело в том, что чеснок принадлежит к той группе растений, которые сохраняют часами и сутками свои фитонцидные свойства.

Уже первые исследования бактерицидных свойств фитонцидов показали, что далеко не всегда мы отмечаем положительный результат, и в то же время приходится убеждаться в изумительной мощности новых бактерицидов.

Причину отдельных неудач нужно искать прежде всего в недоброкачественности источника фитонцидов. Мы уже знаем теперь, что растения в разный период вегетации, в разное время года, при разных почвенных и климатических условиях, при разных физиологических состояниях и т. д. могут продуцировать весьма различное количество фитонцидов. Даже растения с наиболее мощными бактерицидными свойствами, как, например, лук и чеснок, могут дать неожиданные «перебои».

Отметим здесь кстати, что некоторые исследователи, не имея, повидимому, времени и желания внимательно исследовать бактерицидные свойства фитонцидов, сделались жертвой ошибки: на основании отрицательного результата единичного опыта с первым попавшимся луком или чесноком они осмелились сделать заключение об отсутствии бактерицидных свойств фитонцидов этих растений. Многолетний опыт приучил исследователей в области фитонцидов к большой осторожности в выводах. Прежде чем ставить те или иные сложные опыты с луком и чесноком, необходимо убедиться на контрольном тесте в доброкачественности материала. Бывают и такие случаи, когда луковичи лука и чеснока, длительно хранившиеся в неблагоприятных условиях, подвергавшиеся действию низких температур и т. п., почти не обнаруживают бактерицидных начал. Решать вопрос о бактерицидности того или иного растения на основании таких единичных отрицательных результатов, зависящих не от растения, а от домашних хозяек, очень неразумно. Это могут делать лишь безнадёжные скептики.

Исследователи в области фитонцидов каждодневно сталкиваются в своих экспериментах с фактами, требующими самостоятельной экспериментальной расшивки. Легко можно допустить, что приступающий к исследованию влияния фитонцидов, проделав один-два опыта и натолкнувшись на какой-либо подобный факт, разочаровывается и объявляет то или иное растение небактерицидным. Приведем примеры.

Когда можно получить наибольший бактерицидный или фунгицидный эффект: при действии ли летучих фитонцидов данного растения (например чеснока) или если поместить бактерицильные клетки в сок этого растения?

Пары аллил-горчичных масел, выделяющиеся из семян горчицы, обладают исключительной бактерицидной и фунгицидной мощностью по отношению к ряду бактерий и грибов. Получим ли мы наибольший эффект, если бактерицильные клетки окажутся в непосредственном контакте с горчицей — источником летучих бактерицидных веществ? Оказывается, что при

ряде других одинаковых условий эксперимента мы получим гораздо больший противомикробный эффект под влиянием летучих веществ, выделяющихся из данного источника фитонцидов, чем в случае непосредственного контакта с этим источником. Полного объяснения этого явления еще нет.

Бесспорно, однако, что бактериальная клетка, оказавшись, положим, в «горчичной массе», подвергается влиянию бактерицидных веществ, имеющихся в том микропространстве, в котором она находится. Если же бактериальная клетка находится над поверхностью горчицы, то она подвергается непрерывной бомбардировке летучими бактерицидными веществами. Этими и какими-то иными причинами физико-химического порядка объясняется, почему летучие фитонциды некоторых растений оказываются эффективнее, чем тканевой сок данного растения. То же относится и к опытам с туберкулезной палочкой. Однако это не общая закономерность и зависит она от источника фитонцидов и от конкретных условий опыта.

Обратимся снова к исследованиям А. Филатовой. Ею начаты, а Н. Краснопецовой продолжены очень интересные исследования влияния фитонцидов обыденных пищевых растений на бактериальную флору полости рта. В 1936—1937 гг. А. Филатова провела следующие опыты, носившие характер разведки в новой области. Со слизистой рта здорового человека берут соскоб для посева. Затем дают ему жевать в течение 10 минут хлеб, чтобы механически очистить полость рта от микроорганизмов, и снова берут соскоб. Наконец, человек жуёт в течение 10 минут лук или в течение 1—3 минут чеснок, после чего опять берут соскоб. Посевы во всех случаях производятся на одной и той же среде при одинаковых условиях. Оказалось, при обычной картине хорошего роста бактерий была выявлена полная стерильность или запоздалый рост бактерий в чашках, где сделан посев соскоба из полости рта после жевания лука или чеснока.

В 1942 г. Н. Краснопецова под руководством Г. Небольовой и Б. Токина провела специальные исследования на эту тему. Стерильным тампоном или платиновой петлей делался соскоб со слизистой рта и производился посев штрихом в чашки Петри с агаровой средой. Опытные чашки тотчас после посева подвергались действию летучих фракций фитонцидов капины из донца луковичи в течение 3—5—10 минут. Для этой цели чашка с посевом переворачивалась на 3—5—10 минут над другой чашкой Петри, на дне которой находилась только что приготовленная кашница. Контролем служили чашки с посевом без воздействия фитонцидов. Все чашки ставились в термостат при 36—38°. Производилось ежедневное наблюдение с учетом динамики роста колоний.

При воздействии фитонцидов в течение 5 минут в 6 опытных чашках из 10 обнаружена полная стерильность, в 3 чаш-

как — одинаковый с контролем рост и в 1 опытной чашке рост обогнал контроль.

При воздействии фитонцидов в течение 5 минут в 8 опытах из 10 наблюдалась полная стерильность и в 2 случаях — запоздалый по сравнению с контролем рост.

При воздействии фитонцидов в течение 10 минут в 5 опытах из 10 наблюдалась полная стерильность, в 3 опытах — запоздалый рост и в 2 опытах — рост, одинаковый с контролем.

Приводим один из протоколов наблюдений.

1. Через 10 часов после посева (воздействие парам фитонцида лука в течение 3 минут): а) контрольный посев — 11 колоний; б) опытный посев — полная стерильность.
2. Через 15 часов после посева: а) контроль — 41 колония; б) опытный посев — полная стерильность.
3. Через 20 часов после посева: а) контрольный посев — ясно виден посев штрихом и отчетливо расположенные по его пути около 200 колоний; б) опытный посев — появляются колонии (30).
4. Через 24 часа после посева: а) контрольный посев — пышный рост; б) опытный посев — 49 колоний.

Следующие серии опытов проведены таким образом. Делают соскоб из полости рта здорового человека для посева на агар-агаровую среду. Затем в течение 3 или 5 минут дают ему жевать лук, после чего также делают соскоб и посев. Опытные и контрольные чашки ставят в термостат при 36—38°. Производится ежечасное наблюдение с учетом роста колоний.

Из 10 опытов (жевание лука в течение 3 минут) в 9 — отсутствие роста в течение суток после посева, в 1 опыте через 15 часов обнаружены 42 колонии. Из 10 опытов (жевание лука в течение 5 минут) в 7 — отсутствие роста в течение суток после посева и в 3 опытах — появление колоний через 15—20 часов. Контроль во всех случаях дал пышный рост.

Проведены опыты и с фитонцидом чеснока. Опытные чашки тотчас после посева подвергли действию летучих фракций фитонцидов чеснока в течение 3 или 5 минут. Из 10 опытов с обработкой парам фитонцидов в течение 3 минут в 9 опытах наблюдалась полная стерильность в первые 2 суток после посева; в 1 опыте наблюдался рост, одинаковый с контролем.

Из 10 опытов с воздействием в течение 5 минут в 8 опытах наблюдалась полная стерильность, в 1 опыте — одинаковый с контролем рост и в 1 опыте — более энергичный рост, нежели в контрольных чашках. Опыты с жеванием чеснока дали стопроцентный положительный результат: достаточно жевать чеснок в течение минуты, чтобы полностью уничтожить бактериальную флору полости здорового рта. Конечно, во всех этих случаях речь идет о поверхности слизистой.

Н. Краснопольцева исследовала влияние паров аллил-горчичного масла на микрофлору полости рта. Из 10 опытов с

воздействием в течение минуты в 9 наблюдалось отсутствие роста в течение суток и только в 1 опыте через 22 часа обнаружены 2 колонии. Аналогичные результаты получены и после воздействия в течение 3 и 5 минут.

Опыты с только что размолотыми семенами красного перца дали положительный результат.

В табл. 22 приведены результаты всех серий опытов.

Таблица 22

Влияние фитонцидов растений на бактериальную флору полости рта

Растение	Всего опытов	Время воздействия (в минутах)	Количество положительных результатов		Количество опытов с отрицательным результатом	
			полная стерильность	замедленный рост	рост в контрольных и опытных чашках	с отрицательным результатом
Лук	20	3	15	1	3	1
"	20	5	15	5	2	—
"	10	10	5	3	1	—
Чеснок	10	3	9	—	1	1
"	10	5	8	—	1	—
"	5	10	5	—	—	—
Красный перец	5	3	3	2	—	—
"	5	5	2	—	2	1
"	5	10	1	—	4	—
Горчица	10	1	9	1	—	—
"	10	3	8	2	—	—
"	5	5	3	1	1	—
"	5	10	2	1	1	—
Всего	120		85	16	15	3

Общий процент положительных результатов — 71

Б. О влиянии фитонцидов на бактерию туберкулеза штамма BCG

Как известно, после 230 последовательных пересевов в одинаковых условиях при 38° в течение 13 лет штамм BCG потерял вирулентность и в настоящее время широко используется для вакцинации детей. Это, не значит, однако, что палочка штамма BCG по своим физико-химическим и биологическим свойствам принципиально отличается от палочки вирулентного штамма. Бациллы BCG сохраняют свою первоначальную кислотоустойчивость и окрашиваются по методу Циля.

посеве микробов на агар, к которому предварительно был добавлен настой кровохлебки, автор наблюдал шероховатую форму колоний и отклонение этих культур от исходной культуры по ряду морфологических и биохимических свойств. Бактерии оказывались полиморфными, палочка была более мелкая, нитевидной формы. Культура плохо агглютинировалась.

4. Бактерицидные свойства эфирных масел растений

В главах о протозоа я привел экспериментальные доказательства исключительной протистоцидной силы эфирных масел растений. Остановимся теперь на вопросе о бактерицидных свойствах эфирных масел. Он не является совершенно новым, так как фармакологам и токсикологам давно известны бактерицидные свойства эфирных масел некоторых растений (тиман, тимол, эйгенол, ванилин, гераниевое масло, коричное, лимонное и др.). В 80—90-х годах прошлого столетия в большом ходу была стерилизация кетгута эфирными маслами хвойных растений.

Н. Плахова под моим руководством исследовала влияние эфирных масел на бактерии (1944). Она вносила на платиновой петле испытуемую культуру в эфирное масло и через определенные промежутки времени производила высевы на соответствующую питательную среду. Всего было сделано около 250 наблюдений, все с отчетливым указанием на мощное бактерицидное действие этого масла на бактерии дизентерийной группы (микробы Шига и Флекснера): исследованы эфирные масла иссопа (*Hyssopus officinalis*), змееголовника (*Dracosephalum moldavicum*), душицы (*Origanum majorana*), базилика (*Ocimum canum*) и полыни (*Artemisia Sieversiana*). Наиболее бактерицидным оказалось эфирное масло иссопа, которое даже в соотношении к микробной взвеси 1:800 при полуторачасовой экспозиции убивает все микробные клетки Шига и Флекснера.

На тех же бактериях обнаружено почти столь же мощное бактерицидное действие эфирного масла змееголовника: при соотношении к микробной взвеси 1:80 достаточно пятиминутной экспозиции, чтобы получить стерильную картину. Даже при «разведении» 1:640 получается полная стерильность, однако для этого требуется полуторачасовая экспозиция. Двух-трехминутного воздействия эфирного масла на микробы Шига достаточно для полной стерилизации. Эфирные масла полыни и базилика оказались относительно менее бактерицидными, хотя бактерицидная мощность их также не может не изумлять. При «разведении» эфирного масла полыни 1:80 достаточно пятиминутной экспозиции для полной стерилизации микробов Шига.

Опыты с «дорожкой», образованной каплей того или иного масла, стекающей по агару, засеянному бактериями, показали, что стерильной оказывается не только дорожка, но, как правило, и вся оставшая поверхность агаровой чашки.

Были проведены опыты с парами эфирных масел, для чего в углубление предметного стекла помещали каплю масла, а над ней монтировали покровное стекло с висюль каплей, содержащей бактерии. Исследовано влияние паров эфирного масла иссопа на брюшнотифозную бациллу: для останковки движения большинства клеток оказывалось достаточным 10—15 минут воздействия. К сожалению, механизм действия эфирных масел, так же как и действия естественных, не изуродованных в химической лаборатории летучих фракций фитонцидов, еще не ясен. Отмечено, что при четырехчасовом контакте бактерий с эфирным маслом форма бактериальных клеток, повидимому, не изменяется или изменяется очень незначительно — встречаются более удлиненные, с расширенными концами. Какова более тонкая картина реакции бактериальной клетки на воздействие эфирных масел, совершенно не известно.

Можно было бы ограничиться сообщением этих данных. Однако, вероятно, кто-либо заинтересуется специально бактерицидными свойствами эфирных масел, поэтому мы позволим себе привести из неопубликованной диссертации Н. Плаховой более подробные данные, суммированные в виде таблиц (31, 32, 33, 34).

Таблица 31

Влияние эфирного масла полыни *Artemisia Sieversiana* на *B. dysenteriae* Shiga (по Плаховой)

Время воздействия	Объемное отношение эфирного масла к микробной взвеси	Результаты опытов спустя сутки			Наблюдения в последующие дни		
		полная стерильность	единичные колонии	рост не отстает от контроля	полная стерильность	единичные колонии	рост не отстает от контроля
5 мин.	1:3						
5 "	1:20						
5 "	1:40						
5 "	1:80						
15—30 мин.	1:160						
1—3—4—5—7—24 часа	3 случая	++	++	—	++	++	—
1 час—4—6 часов	1:240	0	—	Во всех случаях	—	—	—

Таблица 32
Влияние эфирного масла *Ocimum sapum* Sims на *B. dysenteriae* Shiga (по Плаховой)

Объемное отношение эфирного масла к микробной взвеси	Время воздействия	Результаты опытов спустя сутки			Наблюдения в последующие дни		
		полная стерильность	единичные колонии	рост не отстает от контроля	полная стерильность	единичные колонии	рост не отстает от контроля
1:3	5 мин.						
1:10	5 "						
1:20	5 мин.—1 час	++	—	В одном случае	++	—	—
1:80	24 часа	++	—	В одном случае	++	—	—
	5—30 мин.	++	—	В 2 случаях	++	—	В 3 случаях
	1 час—1,5—24 часа	++	—	В 4 случаях	++	—	В 7 случаях
1:120	15—30 мин.—1 час—2—3—4—5—7—24 часа	++	—	В 2 случаях	++	—	—
1:400	24 часа—1 час—4—6 часов	++	—	В 2 случаях	++	—	—

Таблица 33
Влияние эфирного масла змееголовника *Dracoserphalum moldavicum* на *B. dysenteriae* Shiga (по Плаховой)

Объемное отношение эфирного масла к микробной взвеси	Время воздействия	Результаты опытов спустя сутки			Наблюдения в последующие дни		
		полная стерильность	единичные колонии	рост не отстает от контроля	полная стерильность	единичные колонии	рост не отстает от контроля
1:3	15 мин.						
1:8	5 "						
1:20	5 "						
1:40	5 "						
1:80	5 "						
1:160	15 "						
1:240	1 час—4—6 час.	++	—	В 3 случаях	++	—	—
1:320	1 час—4—6 час.	++	—	—	++	—	—
1:640	1,5—4—5—6—24 часа	++	—	—	++	—	—

Влияние эфирного масла иссопа *Hyssopus officinalis*на *B. dysenteriae* Shiga

(по Плаховой)

Объемное отношение эфирного масла к микробной взвеси	Время воздействия	Результаты опытов спустя сутки				Наблюдения в по- следующие дни	
		полная стерильность	едва замечна	рост не отмечен	полная стерильность	едва замечна	рост не отмечен
1:15	5 мин.	+	—	—	+	—	—
1:20	5-30 мин.	+	—	—	+	—	—
	1 час—	—	—	—	—	—	—
	1.5-24 ча- са	—	—	—	—	—	—
1:40	5 мин.	+	—	—	+	—	—
1:60	5-30 мин.	+	—	—	+	—	—
	1 час—	—	—	—	—	—	—
	2-4-24 ча- са	—	—	—	—	—	—
1:270	1 час—4- 6 часов	—	—	—	—	—	—
1:400	1 час—4- 6 часов	+	—	—	+	—	—
1:800	1.5 часа	+	—	—	+	—	—
1:1600	24 часа	+	—	—	+	—	—

Интерес представляют исследования И. Торопцевым¹ эфирных масел лука и чеснока. Приготовлялась растительная кашница, которую заливали четырехкратным объемом серного эфира. Через 24 часа эфир сливали и выпаривали на холоду. После выпаривания оставалось незначительное количество (около 1/500 объема всего верхнего слоя) маслянистой жидкости желтоватого цвета с резким чесночным запахом. Это масло оказалось весьма протистотонным (мгновенно убивает одноклеточных животных) и бактерицидным: эфирное масло чеснока убивает золотистый стафилококк в разведении 1:10 000. Полученное тем же способом эфирное масло из лука убивает инфузорию в первые секунды; золотистый стафилококк погибает при разведении масла 1:3000.

За последнее время на эфирные масла обратили внимание многие исследователи. О. Шишкина¹ обнаружила антисепти-

¹ И. Торопцев. Материалы к проблеме фитонцидов. Дисс., Томск, 1947.

ческие свойства эфирных масел из плодов и листьев *Citrus bergamia* Risso et Poit. (бергамотовое масло), из листьев *Eucalyptus globulus* и *E. citriodora* (эвкалиптовое масло), *Peperomia odoratissima* (гераниевое масло). Объектами воздействия были желтый стафилококк, гемолитический стрептококк, палочка синезеленого гноя, протей, палочка Фридлендера и микробы кишечной группы.

И. Гусынин² способом перегонки с водяным паром выделил вещество, которое при разведении 1:16 000 задерживает рост некоторых бактерий (белый стафилококк, протей и др.).

Сигал и Холден³ доказали, что сок лютика бактерициден для многих грамположительных и грамотрицательных кокков.

Все эти исследования, выполненные в нашей и в других лабораториях, в сущности, возвращают науку к концу прошлого столетия, когда уже было известно бактерицидное действие эфирных масел. Но в науке, кажется, никогда не бывает простого повторения пройденных этапов: что-либо новое для медицины и биологии дадут и эти исследования.

¹ О. Шишкина. Хирургия, 1944, 4.

² И. Гусынин. Доклады ВАСХНИЛ, 1942, в. 3-4.

³ B. Seegal and M. Holden. Science, April 1945, v. 101, 20.